



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج



Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé :

**Isolement, identification et évaluation de l'activité
antimicrobienne de champignons rhizosphériques associés à
Triticum durum et *Lavandula stoechas* L.**

Présenté par :

OULAID HADJIRA & LAIFAOUI FATIMA ZAHRA

Soutenu le 10 / 06 / 2025, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	Mr. MEKHALFI Hamoudi	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mr. SADRATI Nouari	MCA	Université de Bordj Bou Arreridj
Co-Encadrante :	M ^{me} . BOUSSADA Samira	Doctorante	Université de Bordj Bou Arreridj
Examinatrice :	M ^{me} . TAMINE Milouda	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2024/2025

Remerciements

Avant tout, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à **Allah**, le Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la persévérance et la sagesse nécessaires pour mener à bien ce travail de recherche. Sans Sa bénédiction et Sa guidance, rien de tout cela n'aurait été possible.

Nous dédions ce travail à Monsieur **SADRATI Nouari**, notre encadrant, en témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre respect sincère.

Merci pour votre encadrement rigoureux, vos conseils éclairés et votre disponibilité tout au long de cette aventure scientifique. Ce travail porte également la marque de votre engagement et de votre soutien constant.

Nous exprimons notre gratitude aux membres du jury, en particulier à monsieur **MEKHALFI Hamoudi** pour avoir accepté de présider ce jury, et à Madame **TAMINE Milouda** pour avoir accepté d'examiner ce document.

Nous remercions sincèrement Mesdames :

- ❖ **ZERROUG-Amina**
- ❖ **BOUSSAADA-Samira**

pour leur soutien précieux, leurs conseils avisés et leur aide constante tout au long de ce travail.

À tous les ingénieurs des laboratoires pour leur disponibilité, leur expertise et leur accompagnement tout au long de ce travail,

Et tout particulièrement à Monsieur **Mokhoukh Nacer Eddine**, Chef des laboratoires

pour son appui et les facilités accordées

Enfin, nous remercions de tout cœur toutes les personnes qui nous ont soutenus et accompagnés durant ce travail.

Fatima Zahra / Hadjira

Dédicaces

*Louange à **Allah**, le Très-Haut, source de lumière, de force et de patience. Sans Lui, ce travail n'aurait jamais vu le jour.*

Je dédie humblement ce travail à ceux qui ont profondément marqué mon chemin :

*À mon père **Farid**, pour ton silence empli de dignité et ta force tranquille qui a toujours été mon soutien.*

*À ma mère **Naïma**, source d'un amour infini et refuge dans l'adversité, dont aucun mot ne saurait exprimer l'ampleur des sacrifices.*

*À mes chères sœurs **Marwa, Nada, Malak et Souhila**, pour votre amour sincère, vos rires qui ont illuminé mes journées, et votre soutien discret mais constant.*

*À ma grand-mère **Bouhada Taous**, dont les prières silencieuses et l'amour pur ont été une bénédiction dans ma vie.*

*Et à mon amie précieuse et binôme **Hadjira**, qui fut plus qu'une collègue, une véritable sœur dans cette aventure, avec sa rigueur, sa patience et sa bienveillance.*

À vous tous, je dis du fond du cœur : merci. Chaque ligne de ce mémoire porte en elle une part de vous.

Fatima Zahra

Dédicaces

Avant tout, je remercie ﷻ, pour m'avoir donné la force, la patience et le courage de terminer ce travail. Sans Lui, rien n'aurait été possible.

Avec tout mon amour, je dédie ce travail :

*À Ma chère maman **Malika**,*

La plus précieuse des personnes. Merci pour ton amour, tes prières, ton soutien de tous les jours, et tes innombrables sacrifices. Que Dieu te protège et te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi.

*À mon père bien-aimé **Farid**,*

Merci pour ton amour silencieux, ta présence rassurante et ton soutien constant. Tu as toujours été là, même sans le dire, et cela a fait toute la différence.

*À mon frère **Mohamed**,*

Merci pour ta présence constante, tes encouragements et ta bonne humeur. Tu m'as toujours aidée à garder le moral.

Et enfin,

*À mon binôme et meilleure amie **Fatima**,*

Tu n'as pas été seulement une partenaire de travail, mais une vraie sœur de cœur. Ton soutien académique, ton écoute, ton sérieux, ta bienveillance, et surtout ton amitié précieuse ont rendu ce parcours plus doux et plus fort. Je suis fière d'avoir partagé cette belle aventure avec toi, et je garderai toujours en moi la valeur de tout ce que nous avons vécu ensemble.

Hadjira

SOMMAIRE

المخلص.....	I
Résumé.....	II
Abstract.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des Tableaux.....	VI
Liste des abréviations.....	VII

Partie I. Introduction Générale

I. Introduction	1
-----------------------	---

Partie II. Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes	4
II.1 Matériel.....	4
II.1.1 Produits chimiques et milieux de culture.....	4
II.1.2 Appareillage et outillage	4
II.1.3 Matériel biologique	4
II.2 Méthodes	6
II.2.1 Echantillonnage.....	6
II.2.2 Isolement des champignons rhizosphériques	6
II.2.3. Purification des champignons rhizosphériques	8
II.2.4. Conservation des isolats.....	8
II.2.5. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne	8
II.2.6. Fermentation et extraction	9
II.2.7. Identification macroscopique et microscopique des isolats	10
II.2.8 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits	10
II.2.9 Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	11

Partie III. Résultats et discussion

III.1 Isolement des isolats fongiques rhizosphériques et criblage préliminaire de leur potentiel antimicrobien.....	12
III.2. Identification morphologique des isolats fongiques.....	16
III.2.1 Les isolats CH5 / CH8 / CH18 / CH29 / CH44	16
III.2.2 L'isolat CH19	20

III.2.3 L'isolat CH38	21
III.3 Activité antimicrobienne des extraits fongiques	23
III.3.1 Techniques des puits.....	23
III.3.2 Détermination de la CMI.....	29
IV. Conclusion et perspectives	34
V. Références bibliographiques.....	36

أجريت هذه الدراسة بهدف عزل وتحديد الفطريات الجذرية المرتبطة بنباتي القمح الصلب (*Triticum durum*) والخزامى (*Lavandula stoechas* L.) تم الحصول على 44 عزلة فطرية من عينات التربة الجذرية المجمعة من منطقتي برج بو عريريج وبجاية. تم إجراء فحص أولي للنشاط المضاد للميكروبات ضد *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* و *Candida albicans*. أظهرت 8 عزلات نشاطاً ضد *S. aureus* ، و 4 ضد *E. coli* ، بينما لم تُظهر أي عزلة نشاطاً ضد *C. albicans* بناءً على نتائج هذا الفحص، تم اختيار 7 عزلات CH5 ، CH8 ، CH18 ، CH19 ، CH29 ، CH38 ، CH44 لإجراء اختبارات متقدمة. حُددت هذه العزلات مورفولوجياً وأدرجت ضمن أجناس *Aspergillus* ، *Penicillium* و *Fusarium* أظهرت المستخلصات الناتجة عن التخمر في وسط سائل والاستخلاص باستخدام الأسيتات الإيثيلي تبايناً في النشاط المضاد. أظهرت عزلة (*Fusarium* sp. (CH38) أعلى تأثير، حيث بلغت مناطق التثبيط 26 ملم ضد *Bacillus cereus* ، و 24 ملم ضد *Streptococcus pyogenes* ، و 22.5 ملم ضد *Staphylococcus aureus*. كما أظهرت عزلة (*Penicillium* sp. (CH19) نشاطاً قوياً بلغ 19.75 ملم ضد *S. pyogenes* و 19.5 ملم ضد *B. cereus* و *K. pneumonia*. تميزت عزلة (*Aspergillus* sp. (CH29) بنطاق أوسع من الفعالية شمل بعض البكتيريا سالبة الجرام. أكدت اختبارات التركيز المثبط الأدنى (CMI) هذه النتائج، خصوصاً لعزلة CH38 التي سجلت قيمة تتراوح بين 0.128 و 0.256 ملغ/مل ضد *B. cereus* و *S. aureus*. في المقابل، أظهرت بعض العزلات مثل (*Aspergillus* sp. (CH44) نشاطاً محدوداً جداً. تُسلط هذه النتائج الضوء على الغنى البيولوجي لترب الجذور بالفطريات، القدرة على إنتاج مرغبات ذات نشاط حيوي، مما يعزز إمكانية استغلالها كمصدر واعد في مجال التكنولوجيا الحيوية المضادة للميكروبات، لا سيما في مواجهة البكتيريا موجبة الجرام المقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الجذرية، القمح الصلب (*Triticum durum*) ، الخزامى (*Lavandula stoechas* L.) ، النشاط المضاد للبكتيريا، المستقلبات الثانوية، *Aspergillus* ، *Penicillium* ، *Fusarium*

Résumé

Cette étude a été menée afin d'isoler et d'identifier des champignons rhizosphériques associés à *Triticum durum* et *Lavandula stoechas* L. Dans le but d'évaluer leur potentiel antimicrobien. Au total, 44 isolats fongiques ont été obtenus à partir des échantillons de sols rhizosphériques collectés dans les régions de Bordj Bou Arréridj et Béjaïa. Un criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne a été réalisé contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Huit isolats ont montré une activité contre *S. aureus*, quatre contre *E. coli*, et aucun contre *C. albicans*. Sur la base de leur activité, sept isolats (CH5, CH8, CH18, CH19, CH29, CH38, CH44) ont été retenus pour des tests approfondis. L'identification morphologique a permis d'assigner ces isolats aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Les extraits obtenus par fermentation en milieu liquide et extraction à l'acétate d'éthyle ont révélé des profils d'activité différenciés. *Fusarium* sp. (CH38) a présenté les zones d'inhibition les plus importantes : 26 mm contre *Bacillus cereus*, 24 mm contre *Streptococcus pyogenes*, et 22,5 mm contre *S. aureus*. *Penicillium* sp. (CH19) a également montré une forte activité, atteignant 19,75 mm contre *S. pyogenes* et 19,5 mm contre *B. cereus* et *K. pneumoniae*. L'isolat *Aspergillus* sp. (CH29) s'est distingué par un spectre plus large, incluant certaines bactéries Gram négatives. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) a confirmé une forte activité, notamment pour CH38 contre *Bacillus cereus* et *S. aureus* (CMI = 0,128–0,256 mg/mL). À l'inverse, certains isolats (*Aspergillus* sp. CH44) ont montré une activité très limitée. L'ensemble des résultats met en évidence la richesse des sols rhizosphériques en champignons producteurs de métabolites bioactifs, avec un potentiel exploitable en biotechnologie antimicrobienne, en particulier contre les bactéries Gram positives multirésistantes.

Mots clés : Champignons rhizosphériques, *Triticum durum*, *Lavandula stoechas* L, activité antibactérienne, métabolites secondaires, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

Abstract

This study was conducted to isolate and identify rhizospheric fungi associated with *Triticum durum* and *Lavandula stoechas* L in order to evaluate their antimicrobial potential. A total of 44 fungal isolates were obtained from rhizospheric soil samples collected in the regions of Bordj Bou Arréridj and Béjaïa. A preliminary screening of antimicrobial activity was carried out against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*. Eight isolates showed activity against *S. aureus*, four against *E. coli*, and none against *C. albicans*. Based on their performance, seven isolates (CH5, CH8, CH18, CH19, CH29, CH38, CH44) were selected for further investigation. Morphological identification classified them into the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Fusarium*. Extracts obtained through liquid fermentation and ethyl acetate extraction showed varying activity profiles. *Fusarium* sp. (CH38) exhibited the largest inhibition zones: 26 mm against *Bacillus cereus*, 24 mm against *Streptococcus pyogenes*, and 22.5 mm against *S. aureus*. *Penicillium* sp. (CH19) also demonstrated strong activity, with 19.75 mm against *S. pyogenes* and 19.5 mm against *B. cereus* and *K. pneumoniae*. *Aspergillus* sp. (CH29) was notable for a broader spectrum that included some Gram-negative bacteria. Minimum inhibitory concentration (MIC) testing confirmed strong activity, especially for CH38, with MIC values of 0.128–0.256 mg/mL against *Bacillus cereus* and *S. aureus*. In contrast, certain isolates such as *Aspergillus* sp. (CH44) showed very limited activity. Overall, the findings highlight the richness of rhizospheric soils in fungi producing bioactive metabolites with exploitable potential in antimicrobial biotechnology, particularly against multidrug-resistant Gram-positive bacteria.

Keywords: Rhizospheric fungi, *Triticum durum*, *Lavandula stoechas* L, antibacterial activity, secondary metabolites, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

Liste des figures

Figure 1: Photographie de la plante <i>Lavandula stoechas</i> L	5
Figure 2 : Localisation géographique du site de prélèvement de plante <i>Lavandula stoechas</i> L	5
Figure 3: Photographie de la plante <i>Triticum durum</i>	5
Figure 4: Localisation géographique du site de prélèvement de plante <i>Triticum durum</i>	5
Figure 5: Procédé d'isolement des champignons rhizosphériques.....	7
Figure 6: Pourcentages des isolats fongiques actifs contre les germes pathogènes testés.....	13
Figure 7: Résultats du criblage préliminaire de l'activité antibactérienne contre <i>E.coli</i> . Les valeurs sont exprimées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD)	14
Figure 8: Résultats du criblage préliminaire de l'activité antibactérienne contre <i>S. aureus</i> . Les valeurs sont exprimées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).....	14
Figure 9: Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.....	15
Figure 10 : Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH18 (<i>Aspergillus</i> sp. 1).....	17
Figure 11: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH29 (<i>Aspergillus</i> sp. 2).....	18
Figure 12: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH05 (<i>Aspergillus</i> sp. 3).....	18
Figure 13: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH08 (<i>Aspergillus</i> sp. 4).....	18
Figure 14: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH44 (<i>Aspergillus</i> sp. 5).....	19
Figure 15: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique Ch19 (<i>Penicillium</i> sp.).....	20
Figure 16: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH38 (<i>Fusarium</i> sp.).....	21

Figure 17: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH19 (<i>Penicillium sp.</i>) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	24
Figure 18: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH29 (<i>Aspergillus sp.2</i>) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	25
Figure 19: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH38 (<i>Fusarium sp.</i>) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).....	25
Figure20: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH5 (<i>Aspergillus sp.3</i>) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).....	26
Figure 21: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH8 (<i>Aspergillus sp.4</i>) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).....	26
Figure 22: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH18 (<i>Aspergillus sp.1</i>) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).	27
Figure 23: Effet des Antibiotiques Standards sur les Bactéries Pathogènes.....	28
Figure 24 : Photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des puits.....	28

Liste des tableaux

Tableau 1: Souches microbiennes utilisées dans l'étude.....	4
Tableau 2: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des isolats fongiques.....	16
Tableau 3: Les valeurs des CMI (mg/mL) obtenues par l'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat CH29 (<i>Aspergillus</i> sp.2) et l'isolat CH38 (<i>Fusarium</i> sp.) contre les différentes bactéries pathogènes	30

Liste des abréviations

ECM	Champignons Ectomycorhiziens
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potato Dextrose Broth
UFC	Unité Formant Colonie
ATCC	American Type Culture Collection
DMSO	Diméthylsulfoxyde
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CIP	Ciprofloxacine
CAZ	Ceftazidime
GEN	Gentamicine
LMA	Laboratoire de Microbiologie Appliquée
LHR	Laboratoire Hôpital Ras El Oued
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Partie I : Introduction Générale

I. Introduction

Le sol, matrice vivante et essentielle au fonctionnement des écosystèmes terrestres, joue un rôle fondamental dans la croissance et le développement des plantes. Il peut être différencié en deux compartiments : le sol rhizosphérique, étroitement associé aux racines, et le sol non rhizosphérique (**Ahmed et al., 2022**). La rhizosphère constitue une zone microécologique particulièrement dynamique, influencée par les propriétés biologiques, chimiques et physiques du sol (**Al-Abbasi et al., 2021**). Les plantes interagissent en permanence avec divers microorganismes notamment des bactéries et des champignons. Dans les écosystèmes forestiers, la communauté microbienne y est largement dominée par les champignons (**Williams et al., 2024**). Ces microorganismes, qu'ils soient pathogènes ou bénéfiques, peuvent être localisés à la surface de la plante (épiphytes), à l'intérieur de ses tissus (endophytes) ou en association avec ses racines (mycorhizes). Ces derniers omniprésents dans les sols de la plupart des écosystèmes terrestres établissent des associations symbiotiques durables avec les systèmes racinaires de la grande majorité des espèces végétales (**Anthony, 2025**).

Deux principaux types d'association mycorhizienne ont été décrits en fonction de leurs caractéristiques morphologiques : les endomycorhizes et les ectomycorhizes. Les premières sont les plus répandues, colonisant près de 80 % des plantes terrestres. Les champignons ectomycorhiziens (ECM) sont des micro-organismes fongiques qui établissent une symbiose spécifique avec les racines d'arbres, principalement dans les écosystèmes forestiers tempérés. Cette association mutualiste permet aux plantes hôtes de bénéficier d'une meilleure absorption de l'eau et des nutriments, en particulier du phosphore et de l'azote (**Anthony, 2025**). Elle contribue également à améliorer leur tolérance aux stress biotiques, tels que les pathogènes, ainsi qu'aux stress abiotiques comme la sécheresse ou la salinité (**Pang et al., 2023**).

Sur le plan morphologique, les ECM induisent la formation d'un manteau fongique entourant les racines ainsi que le développement d'un réseau d'hyphes externes (**Ganeshkumar et al., 2021**), ces structures conduisent à l'établissement d'une zone fonctionnelle spécifique, appelée rhizosphère ectomycorhizienne, qui jouant un rôle clé dans les échanges entre le sol, le champignon et la plante (**El Amrani, 2024**).

Au-delà de leur rôle écologique, les champignons mycorhiziens suscitent un grand intérêt biotechnologique en raison de leur capacité à produire une large gamme de métabolites secondaires biologiquement actifs (**Hashem et al., 2023**). Ces molécules présentent diverses activités biologiques : antibactériennes, antifongiques, antivirales, anticancéreuses antioxydantes ou encore antidiabétiques (**Mba, 2025**). L'exemple Caractéristique reste la découverte de la pénicilline, premier antibiotique produit par *Penicillium notatum*, isolé par **Alexander Fleming en 1928**.

De nombreux champignons et bactéries sont capables de produire des métabolites secondaires « un terme introduit par **Albrecht Kossel en 1891** » pour désigner des composés non essentiels à la survie immédiate des micro-organismes. (**Vignolle et al., 2025**). Ces molécules, excrétées sous forme de mélanges complexes, se distinguent par leur diversité structurale et fonctionnelle (**Falleh et al., 2021**). Leur biosynthèse intervient en général en fin de phase de croissance active, au début de la phase stationnaire (idiophase), à partir des métabolites primaires produits durant la phase exponentielle (trophophase) (**Zhgun, 2023**).

L'intérêt pour les métabolites secondaires s'est considérablement renforcé ces dernières années, notamment en raison de la recrudescence de la résistance des pathogènes aux antibiotiques. Ce phénomène mondial, observé également en Algérie, complique la prise en charge des infections et résulte en grande partie de l'usage abusif des agents antimicrobiens et antiparasitaires (**Zerroug et al., 2018**). Dans ce contexte, les produits naturels, et en particulier les champignons rhizosphériques, représentent une source prometteuse de nouvelles molécules actives (**Ibrahim et Asfour, 2018**).

L'étude des interactions champignons-plantes hôtes est donc particulièrement pertinente, notamment dans le cadre des plantes médicinales et des céréales. Les plantes aromatiques, comme la lavande (*Lavandula stoechas* L), sont utilisées depuis des siècles en médecine traditionnelle pour leur richesse en composés bioactifs à activités variées : antibactériennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antioxydantes et anticancéreuses (**Kachmar et al., 2021**). Les céréales, telles que le blé dur (*Triticum durum.*), occupent quant à elles une place centrale dans la sécurité alimentaire mondiale et sont souvent associées à des champignons mycorhiziens influençant leur croissance, leur tolérance au stress, et leur rendement.

L'exploration des communautés fongiques associées à ces deux types de plantes permet de mieux comprendre les dynamiques sol-plante-microorganismes, tout en ouvrant la voie à des applications potentielles en agriculture durable, en pharmacologie et en biotechnologie.

Dans ce contexte, le présent travail de recherche vise à isoler et identifier des champignons associés à la rhizosphère de deux plantes d'intérêt : la lavande (*Lavandula stoechas* L), plante médicinale riche en composés bioactifs, et le blé dur (*Triticum durum*), céréale majeure dans les systèmes agricoles. L'objectif principal est d'évaluer le potentiel antimicrobien des souches fongiques isolées, ainsi que celui des extraits obtenus par fermentation.

Pour atteindre cet objectif, le mémoire est structuré en trois parties :

- a. Une introduction générale présentant le rôle des champignons rhizosphériques, la nature de leurs métabolites secondaires, et leurs applications biotechnologiques.
- b. Une partie expérimentale détaillant les méthodes utilisées : isolement des champignons à partir de la rhizosphère des deux plantes, dépistage de l'activité antibactérienne, sélection des souches actives, identification morphologique, fermentation et extraction des métabolites secondaires.
- c. Une partie analytique consacrée à l'interprétation et à la discussion des résultats obtenus.

Partie II. Matériel et Méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Produits chimiques et milieux de culture

II.1.1.1 Produits chimiques

Les différents produits chimiques utilisés dans ce travail sont cités en Annexe 01

II.1.1.2 Milieux de culture

Les milieux ont été préparés au laboratoire de microbiologie de l'université et sont présentés dans Annexe 02.

II.1.2 Appareillage et outillage

Les appareils utilisés, et les différents outils en rapport avec la verrerie du laboratoire ainsi que des outils en rapport avec la microbiologie sont présentés en Annexe 03.

II.1.3 Matériel biologique

II.1.3.1 Matériel microbien

Tableau 1: Souches microbiennes utilisées dans l'étude

Type de microorganisme	Code de la souche	Genre supposé	Origine
Bactéries à Gram négatif	B1	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	LMA
	B7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	LMA
	B8	<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 13311	LMA
	B11	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	LMA
Bactéries à Gram positif	B2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	LMA
	B4	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876	LMA
	B5	<i>Micrococcus luteus</i> NRLL B-4375	LMA
	B6	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 49452	LMA
	B9	<i>Listeria monocytogenes</i>	LHR
	B10	<i>Streptococcus pyogenes</i>	LHR
Levure	B3	<i>Candida albicans</i> ATCC 1024	LMA

*LMA : Laboratoire de microbiologie appliquée- université de Bordj Bou Arreridj- Algérie.

*LHR : Laboratoire-Hôpital Ras El Oued- Bordj Bou Arreridj- Algérie.

II.1.3.2 Matériel végétal

Cette étude a porté sur des plantes saines de *Triticum durum* (blé dur) et de *Lavandula stoechas* L (Lavande), collectées respectivement dans les régions de Bordj Bou Arreridj et de Béjaïa, en Algérie. Ces zones présentent des conditions agroécologiques favorables au développement de ces espèces.



Figure 1: Photographie de la plante *Lavandula stoechas* L



Figure 2 : Localisation géographique du site de prélèvement de plante *Lavandula stoechas* L



Figure 3: Photographie de la plante *Triticum durum*



Figure 4: Localisation géographique du site de prélèvement de plante *Triticum durum*.

II.2 Méthodes

II.2.1 Echantillonnage

Dans le cadre de cette étude, des échantillons ont été prélevés à partir de plantes saines appartenant à deux espèces d'intérêt : *Triticum durum* (Blé dur) et *Lavandula stoechas* L (Lavande). Les prélèvements ont été réalisés au printemps 2025 dans deux régions agroécologiques distinctes d'Algérie : la wilaya de Bordj Bou Arreridj (Aouine Zerayga) pour le blé dur, et celle de Béjaïa (Akbou) pour la lavande. Ces régions, caractérisées par un climat semi-aride, présentent des conditions édaphiques favorables au développement des cultures céréalières et des plantes aromatiques, notamment grâce à la richesse de leurs sols en nutriments essentiels.

Les échantillons de rhizosphère ont été soigneusement collectés à l'aide d'outils stériles, puis conditionnés dans des sacs plastiques hermétiques et étiquetés. Afin de préserver l'intégrité microbiologique des échantillons, ceux-ci ont été transportés dans les meilleures conditions possibles vers le laboratoire de microbiologie de l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi. Conformément au protocole décrit par (**Jing et al., 2025**). Les échantillons ont été traités dans un délai maximal de 24 heures suivant leur collecte.

II.2.2 Isolement des champignons rhizosphériques

L'isolement des champignons rhizosphériques associés à *Triticum durum* et *Lavandula stoechas* L repose sur la récupération des micro-organismes présents dans la zone rhizosphérique, c'est-à-dire la fraction du sol directement influencée par les racines. Les racines de chaque plante sont soigneusement extraites avec une portion de sol adhérent, puis secouées délicatement afin de collecter la terre la plus proche du système racinaire, réputée riche en interactions microbiologiques. Cette fraction de sol est ensuite utilisée pour la préparation de suspensions microbiennes à partir desquelles sont réalisées des dilutions décimales.

II.2.2.1 Préparation des suspensions de sol et réalisation des dilutions décimales

Avant toute manipulation microbiologique, une zone de travail stérile est aménagée à proximité de la flamme d'un bec Bunsen, sur une paillasse préalablement nettoyée et désinfectée, afin de limiter les risques de contamination. La préparation de la solution mère consiste à suspendre 1 g de sol dans 9 mL d'eau physiologique stérile, suivie d'une agitation vigoureuse au vortex pendant 10 minutes afin d'assurer une homogénéisation optimale.

À partir de cette solution mère, une série de dilutions décimales successives, allant de 10^{-1} à 10^{-8} , est réalisée selon la méthode standard de dilution en cascade. Pour ce faire, sept tubes stériles, chacun contenant 9 mL d'eau physiologique stérile, sont préalablement étiquetés de 10^{-1} à 10^{-8} . Ensuite, 1 mL de la solution mère est transféré aseptiquement dans le premier tube (10^{-1}), lequel est agité au vortex afin d'assurer une bonne homogénéité. À partir de ce tube, 1 mL est prélevé et transféré dans le tube suivant (10^{-2}), également agité après mélange, et ainsi de suite jusqu'à la dilution finale 10^{-8} . Chaque étape de dilution est réalisée à l'aide d'une micropipette munie d'un embout stérile, qui est systématiquement changé entre chaque transfert afin de prévenir toute contamination croisée. Ce protocole rigoureux permet d'obtenir une série de suspensions microbiennes aux concentrations progressivement décroissantes (Noor et al., 2025).

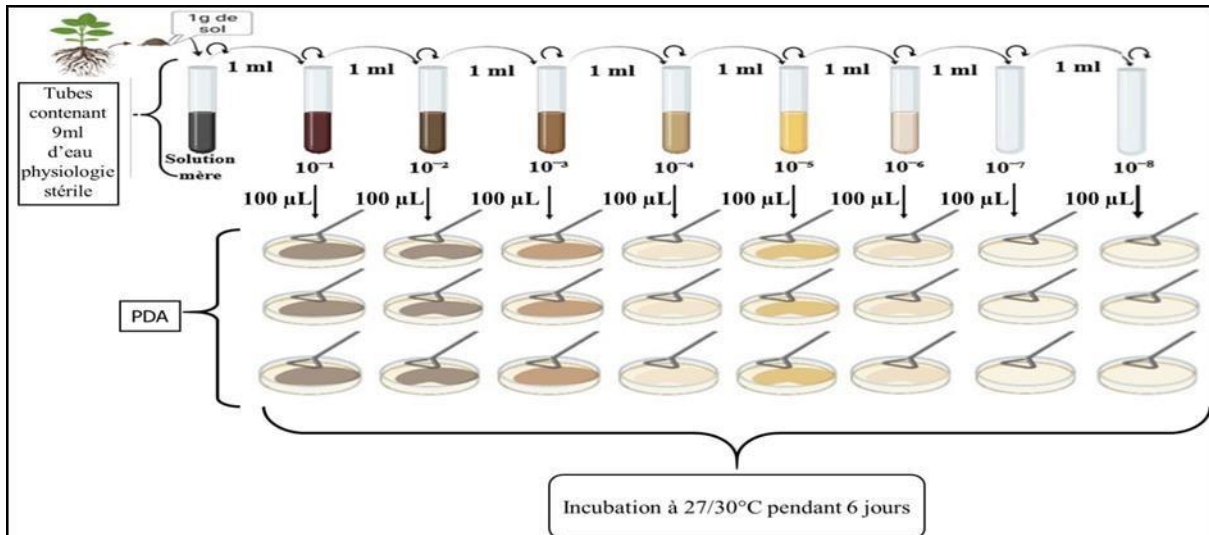


Figure 5: Procédé d'isolement des champignons rhizosphériques

II.2.2.2 Ensemencement et incubation

Des boîtes de Pétri, préalablement identifiées, ont été préparées avec un milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) supplémenté avec 400 µL de gentamicine et 90 µL de pénicilline pour 180 mL dans le but d'inhiber sélectivement la croissance bactérienne et de favoriser l'isolement des champignons (Baz et al., 2024). À l'aide d'une micropipette un volume de 100 µL de chaque dilution a été prélevé de manière aseptique, puis étalé uniformément sur toute la surface du milieu gélosé à l'aide d'un étaleur stérile, en effectuant un mouvement circulaire afin d'assurer une répartition homogène de l'inoculum. Chaque dilution a fait l'objet de trois répétitions

indépendantes. Les boîtes ainsiensemencées ont été incubées à une température contrôlée de 27 à 30°C pendant une durée de six jours (Syatrawati et al., 2024).

II.2.3. Purification des champignons rhizosphériques

La purification des isolats fongiques constitue une étape cruciale permettant d'obtenir des cultures isolées, en éliminant toute forme de contamination ou de croissance simultanée d'autres micro-organismes. Elle débute par le prélèvement aseptique de fragments mycéliens issus des colonies fongiques développées initialement sur un milieu PDA supplémenté en antibiotiques. Ces fragments sont ensuite transférés avec précision au centre de boîtes de Pétri contenant un milieu de culture frais ne contenant pas d'antibiotiques, les boîtes sont incubées à 28°C pendant 3 à 7 jours. Cette étape a été répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'isolats fongiques purs présentant une colonie uniforme (Hussein et al., 2024).

II.2.4. Conservation des isolats

Après isolement et purification, les souches fongiques ont été conservées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile pour être utilisés dans des tests ultérieurs. Cette méthode de conservation, simple et économique, permet de maintenir la stabilité des spores fongiques pendant plusieurs mois sans altération significative de leurs caractéristiques morphologiques ou physiologiques. Pour cela, de petits fragments de mycélium bien sporulés ou des disques de milieu de culture colonisé ont été transférés aseptiquement dans des tubes stériles contenant 9mL d'eau physiologique. Les tubes ont ensuite été stockés à une température de 4 °C (De Souza Rabello et al., 2022).

II.2.5. Dépistage préliminaire de l'activité antimicrobienne

II.2.5.1 Microorganismes cibles

L'activité antimicrobienne des isolats fongiques a été testée contre deux souches bactériennes pathogènes (*S. aureus*, *E. coli*) et une dermatophyte (*C. albicans*).

II.2.5.2 Préparation des inocula et mise en place du test de diffusion en gélose

À partir de colonies fraîches (âgées de 18 à 24 heures pour les bactéries et de 48 heures pour la levure), des suspensions microbiennes ont été préparées dans de l'eau physiologique stérile. La

densité optique des suspensions bactériennes a été ajustée à 625 nm (DO = 0,08–0,1), correspondant à une concentration de 10^8 UFC/mL, tandis que celle de la levure a été réglée à 530 nm (DO = 0,12–0,15), équivalente à 5×10^6 cellules/mL conformément aux recommandations de (**Brazhnikova et al., 2025**). L'inoculum obtenu a ensuite été étalé uniformément à l'aide d'un écouvillon stérile sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive pour les bactéries et PDA pour la levure. Sur ces milieux ensemencés, des disques de 6 mm de diamètre, découpés à partir de cultures fongiques âgées de 14 jours, ont été soigneusement déposés afin de permettre l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

II.2.5.1 Incubation et mesure des zones d'inhibition

Conformément au protocole de **Ibnouf et al. (2022)**, avec quelques modifications, les boîtes ont été placées à 4 °C pendant 3 heures afin de favoriser la diffusion des métabolites fongiques. L'incubation a ensuite été poursuivie à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour la levure. Les zones d'inhibition autour des disques ont été mesurées afin d'évaluer le potentiel antibactérien et antilevurien des isolats (**Syatrawati et al., 2024**).

II.2.6. Fermentation et extraction

Selon la méthode décrit par **Farooq et al. (2023)**, Des disques mycéliens de 6 mm de diamètre ont été prélevés à partir de la périphérie des cultures fongiques âgées de 7 jours. Pour chaque isolat, trois disques ont été transférés dans chacun des sept Erlenmeyers de 1000 mL contenant 125 mL du milieu liquide Potato Dextrose Broth (PDB), préalablement stérilisé par autoclavage et bouché avec du coton cardé. Ces Erlenmeyers ont été préalablement étiquetés avec des codes spécifiques, afin de garantir une traçabilité et une identification claires de chaque culture. Ils ont ensuite été incubés à 27 °C pendant 15 jours, avec une agitation périodique, afin de favoriser la croissance du mycélium et la production des métabolites secondaires.

À l'issue de l'incubation, les cultures ont été filtrées à l'aide de papier filtre stérile pour séparer le mycélium du bouillon fermenté. Chaque filtrat a ensuite été soumis à une extraction liquide-liquide en y ajoutant 125 mL d'acétate d'éthyle, suivi d'une agitation pendant 2 heures. Le mélange obtenu a été transféré dans une ampoule à décanter afin de permettre la séparation des phases. La phase organique (supérieure), contenant les métabolites d'intérêt, a été récupérée puis évaporée sous hotte chimique (**Ibnouf et al., 2022**). Enfin, les extraits secs ont été solubilisés dans

du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour obtenir une solution concentrée à 100 mg/mL, destinée aux tests biologiques ultérieurs.

II.2.7. Identification macroscopique et microscopique des isolats

Les isolats fongiques ayant démontré une activité antagoniste marquée à l'encontre des souches bactériennes et levurienne ont été retenus pour une identification ultérieure. Les champignons ont été initialement cultivés sur milieu PDA à 27 °C pendant une période d'incubation de sept jours.

Selon **Mustofa et al. (2024)**, L'identification d'un champignon repose généralement sur une combinaison de critères morphologique macroscopiques et microscopiques. Parmi les caractères les plus couramment utilisés figurent l'aspect du mycélium (couleur, texture, vitesse de croissance), la forme et la disposition des spores, la structure des conidiophores, ainsi que la présence ou non de cloisons (septation) dans les hyphes.

II.2.8 Evaluation de l'activité antimicrobienne des extraits

L'activité antimicrobienne des extraits d'acétate d'éthyle a été évaluée à l'aide de la technique des puits, dans le but de déterminer le potentiel antimicrobien des sept filtrats testés contre quatre souches bactériennes à Gram négatif (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *K. Pneumoniae*), cinq souches à Gram positif (*S. aureus*, *B. cereus*, *M. luteus*, *E. faecalis*, *L. monocytogenes*), ainsi qu'une souche de levure (*C. albicans*). Pour ce faire, des cultures bactériennes jeunes, ajustées à une concentration de 10^8 UFC/ml, ont étéensemencées sur des boîtes de Pétri contenant du milieu PCA, tandis que la levure, préparée à une concentration de 5×10^6 cellules/m, a étéensemencée sur du PDA.

Des puits de 6 mm de diamètre ont ensuite été réalisés dans les milieux solidifiés, Premièrement, 80 µL de gélose mole ont été ajoutés dans chaque puits. Après solidification, 40 µL de chaque extrait ont été introduits dans deux des puits, tandis que le troisième recevait le même volume de DMSO servant de témoin négatif.

En parallèle, des boîtesensemencées avec les mêmes souches bactériennes ont été réservées pour les témoins positifs, sur lesquelles ont été déposés des disques d'antibiotiques standards : gentamicine (GEN), céphalosporine (CIP) et ceftazidime 30 µg (CAZ 30), afin de comparer l'efficacité des extraits testés à celle de ces antibiotiques de référence. Après une phase de diffusion

à 4 °C pendant 6 heures, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries, et 48 heures pour *C. Albicans* (Ibnouf et al., 2022). Après l'incubation, les zones d'inhibition formées autour des puits ont été mesurées en millimètres.

II.2.9 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits d'acétate d'éthyle de deux champignons C29 et C38 a été déterminée contre dix espèces bactériennes et une levure à l'aide de la méthode de micro dilution en microplaque. Les souches ont été cultivées sur milieu approprié, puis des suspensions microbiennes ont été préparées dans une solution saline stérile jusqu'à obtention d'une turbidité équivalente à 0,5 McFarland (soit environ $1,5 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries et à 5×10^6 cellules/ml pour la levure). Les suspensions microbiennes ajustées ont été diluées dans les milieux de culture appropriés : au 1:20 dans le B.N pour les bactéries, et la levure. Ces dilutions visaient à obtenir des inocula finals de l'ordre de 10^6 UFC/mL pour les bactéries et 5×10^4 cellules/mL pour la levure (Sadрати., 2021).

Dans une microplaque stérile à 96 puits, 90 µL de bouillon nutritif stérile ont été ajoutés dans chaque puits, suivis de 90 µL d'extrait dans la première colonne. Des dilutions en cascade ont ensuite été réalisées horizontalement jusqu'à la colonne 10. À chaque puits, 10 µL de la suspension bactérienne ou levurienne diluée ont été ajoutés de (colonne 1-11), portant le volume final à 100 µL. Deux types de contrôles ont été inclus : un contrôle négatif (colonne 12) contenant uniquement le milieu de culture, afin de vérifier la stérilité ; et un contrôle positif (colonne 11), composé de milieu de culture et du microorganisme sans extrait, permettant de vérifier la croissance microbienne. Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. (Raghavanpillai Sabu et al., 2022).

Les résultats doivent être interprétés dans l'heure qui suit la fin de l'incubation afin de garantir la fiabilité de l'observation. L'évaluation se fait visuellement :

Trouble = croissance (positif)

Limpide = absence de croissance (négatif)

Le puits de contrôle de croissance doit être positif. Dans le cas contraire, le test doit être répété. La CMI obtenue a été interprétée selon les critères d'interprétation de la version en vigueur de European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Partie III : Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1 Isolement des isolats fongiques rhizosphériques et criblage préliminaire de leur potentiel antimicrobien

Dans le cadre de cette étude, un total de 44 isolats fongiques ont été obtenus à partir de la partie rhizosphérique des plantes, 12 pour la plante *Lavandula stoechas* L et 32 de la plante *Triticum durum*, zone reconnue pour sa richesse en micro-organismes bénéfiques ou antagonistes. L'évaluation de leur activité antimicrobienne a été réalisée à l'aide de la technique des cylindres sur gélose (agar well diffusion), en ciblant trois micro-organismes modèles : *S. aureus*, *E. coli*, et *C.albicans* (figure 6 et 9).

L'analyse des résultats a révélé que 18,18 % des isolats (soit 8 isolats sur 44) présentaient une activité inhibitrice vis-à-vis de *S. aureus*, ce qui reflète un certain potentiel antimicrobien, notamment contre les bactéries Gram positives. Concernant *E. coli*, seulement 9 % des isolats (soit 4 sur 44) ont montré une activité, traduisant une efficacité plus limitée contre les bactéries Gram négatives. En revanche, aucun isolat n'a montré d'effet inhibiteur sur *C. albicans*, indiquant une absence totale d'activité antifongique contre cette levure pathogène. Ces résultats suggèrent que les isolats fongiques rhizosphériques testés présentent un spectre d'activité limité, avec une affinité plus marquée pour les bactéries Gram positives, ce qui pourrait être exploité dans la recherche de nouveaux agents antimicrobiens ciblés.

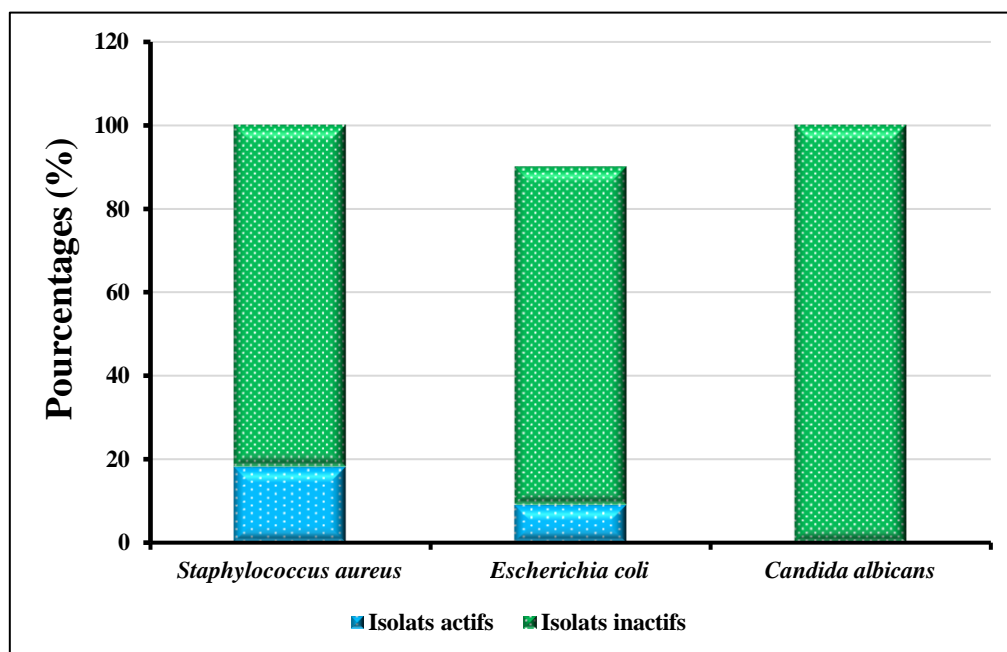


Figure 6: Pourcentages des isolats fongiques actifs contre les germes pathogènes testés

L'évaluation de l'activité antibactérienne des isolats fongiques vis-à-vis de *E. coli* a permis de mettre en évidence des effets variables selon les isolats fongiques. Sur les sept isolats évalués, quatre (CH18, CH19, CH29, CH44) ont montré une activité inhibitrice, tandis que les isolats CH5, CH8 et CH38 se sont révélés inactifs, avec un diamètre d'inhibition nul. Parmi les isolats actifs, CH19 s'est démarqué par la plus grande zone d'inhibition (18,5 mm), indiquant une forte activité antibactérienne. Il est suivi par CH29 (13,5 mm), CH18 (12,5 mm) et CH44 (10,5 mm), qui présentent des activités modérées (**figure 07**).

Les résultats obtenus révèlent une différence marquée dans la sensibilité des deux souches bactériennes vis-à-vis des isolats fongiques testés. En effet, tous les isolats ont présenté une activité inhibitrice contre *S. aureus* avec des diamètres variant entre 15 et 27,5 mm, ce qui reflète un potentiel antimicrobien plus marqué vis-à-vis de cette bactérie Gram positive. L'isolat CH18 se distingue par une activité particulièrement élevée, avec une zone d'inhibition de 27,5 mm, suivie des isolats CH5 et CH38, tous deux avec 22 mm. Les isolats CH19 (20 mm), CH29 (19 mm) et CH8 (18,5 mm) montrent une activité modérée, tandis que CH44 présente la plus faible activité (15 mm) (**figure 8**).

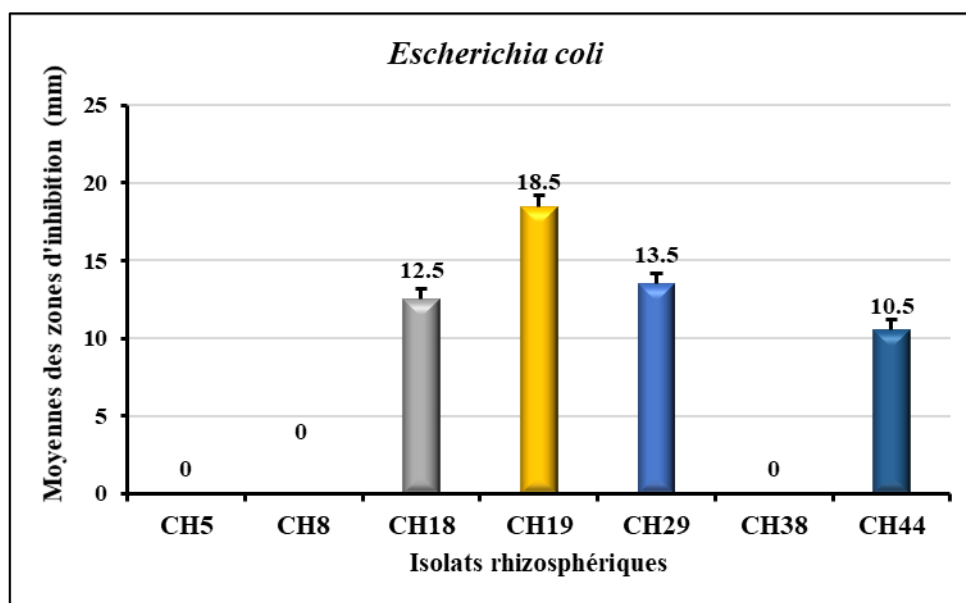


Figure 7: Résultats du criblage préliminaire de l'activité antibactérienne contre *E. coli*. Les valeurs sont exprimées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

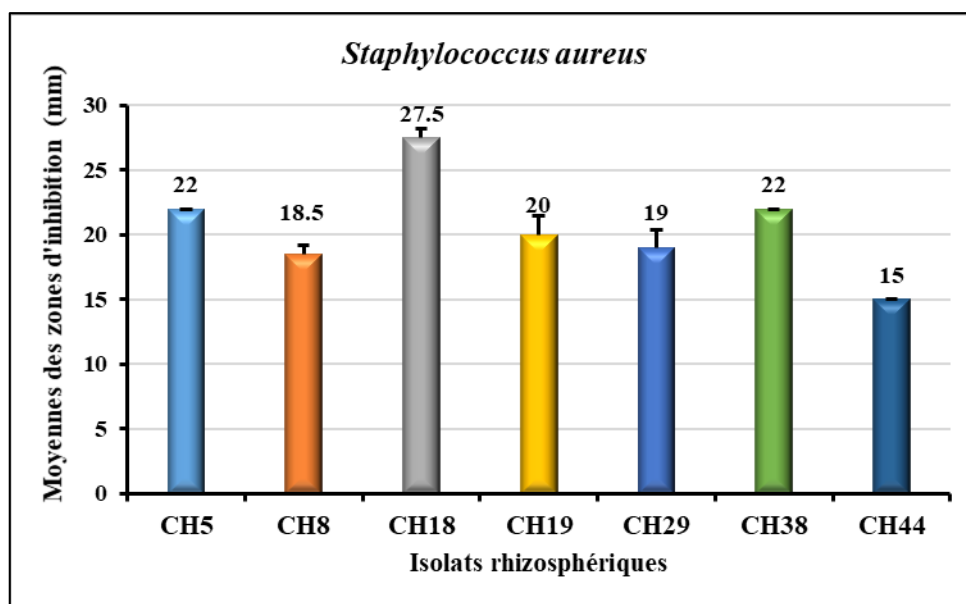


Figure 8: Résultats du criblage préliminaire de l'activité antibactérienne contre *S. aureus*. Les valeurs sont exprimées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

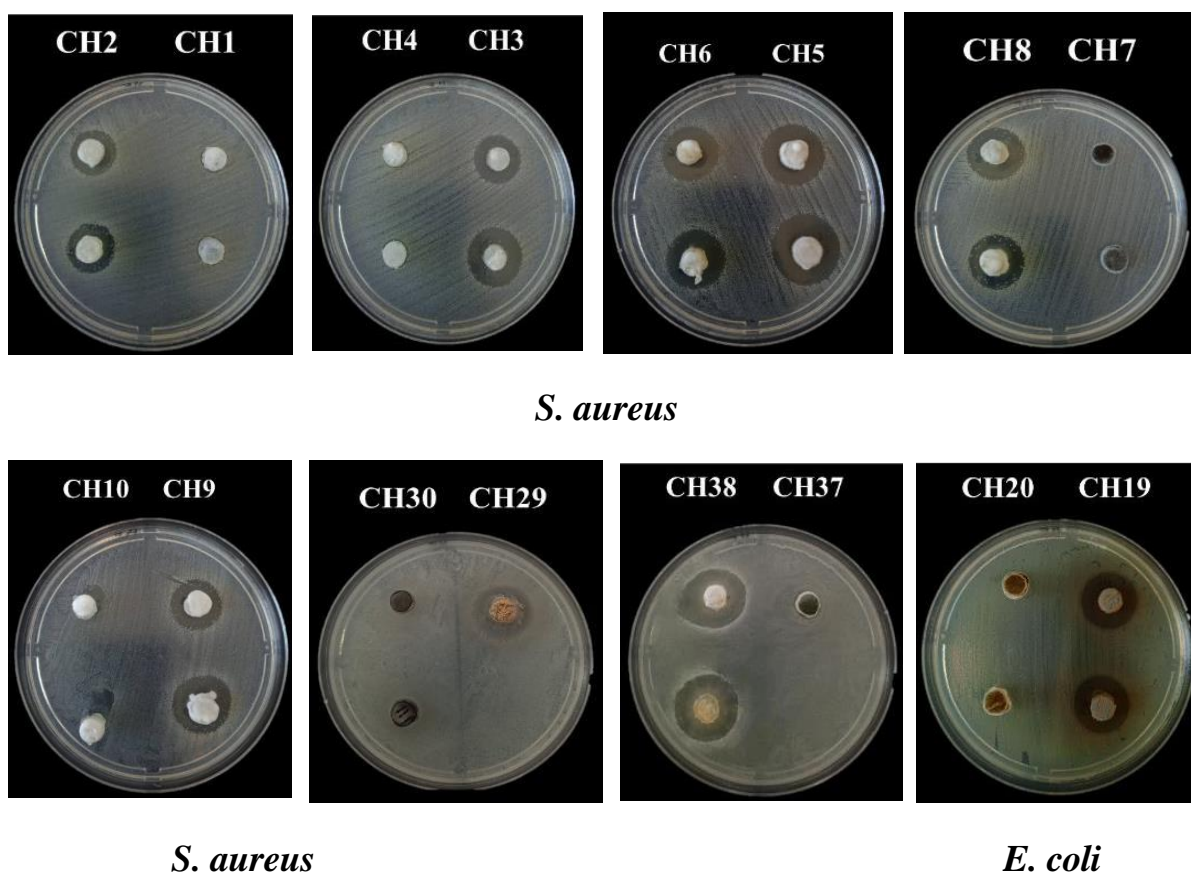


Figure 9: Quelques photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des cylindres d'agar.

Nos résultats sont conformes à ceux publiés par **Jayatilake & Munasinghe, (2020)**. Qui sont isolés 15 champignons à partir de la rhizosphère de *Mikania cordata*, et parmi eux, 6 isolats ont démontré une activité antibactérienne significative lors du test de criblage préliminaire contre des bactéries pathogènes telles que *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Les résultats obtenus dans la présente étude également s'accordent avec ceux documentés par **Abouamama et al., (2023)**, qui ont isolé 11 souches fongiques à partir de la rhizosphère de différentes plantes cultivées dans la région de Tamanrasset, au sud de l'Algérie. Ces isolats appartenaient à plusieurs genres, notamment *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Mucor* et *Penicillium*. Le criblage préliminaire de leur activité antimicrobienne, réalisé par la méthode des cylindres d'agar, a révélé que 10 souches présentaient une activité inhibitrice variable contre quatre bactéries pathogènes : *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*.

L'activité obtenue au cours de cette phase des tests d'activités antimicrobiennes indique de manière très fiable la capacité de certaines souches fongiques isolées de la rhizosphère à produire des métabolites secondaires extracellulaires dans le milieu gélosé, ce qui renforce leur importance au niveau médical pour lutter contre les bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Après avoir mis les disques de gélose cylindriques (cylindres d'agar) en contact avec le milieu préalablement ensemencé par les bactéries, ces composés se diffusent dans le milieu et inhibent ensuite la croissance des bactéries cultivées.

III.2. Identification morphologique des isolats fongiques

À la suite du dépistage de l'activité antimicrobienne, sept isolats fongiques présentant une activité remarquable contre des bactéries pathogènes ont été sélectionnées pour une étude plus approfondie. Ces isolats ont été récupérés à partir de la rhizosphère de deux espèces végétales *Lavandula stoechas* L (Isolats CH5 et CH8) et *Triticum durum* (isolats CH18, CH19, CH29, CH38 et CH44).

III.2.1 Les isolats CH5 / CH8 / CH18 / CH29 / CH44

Après observation microscopique, cinq souches présentent des caractéristiques similaires : une structure mycélienne comparable, un mode de sporulation proche et des conidiophores de même type avec certaines différences entre eux. Ces ressemblances suggèrent qu'elles peuvent appartenir au même genre. Cependant, au niveau macroscopique (forme et couleur de la colonie, texture de surface, vitesse de croissance, etc.), ces cinq souches montrent des différences visibles. Cela peut indiquer qu'elles appartiennent à des espèces différentes à l'intérieur du même genre (**figure 10, 11, 12, 13 et 14**).

Tableau 2: Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des isolats fongiques

Caractéristiques	CH5	CH8	CH18	CH29	CH44
Aspect de la colonie	Circulaire	Circulaire	Circulaire	Circulaire	Circulaire
Couleur de la face supérieure	Vert foncé au centre et bord blanc	Vert claire au centre et bord blanc	Vert pistache au centre et bord jaune	Jaune doré à jaune brunâtre au centre et bord blanc	Vert au centre et bord blanc
Couleur de la face inférieure	Pêche	Blanchâtre	Blanche à jaunâtre	Centre brun foncé, bordure blanche	Orange

Tableau 2 (suite): Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des isolats fongiques

Texture (cotonneuse, poudreuse, etc.)	Poudreuse	Floconneuse	Poudreuse	Granulaire à poudreuse	Poudreuse
Vitesse de croissance	Rapide	Rapide	Rapide	Moyen	Lent
Diamètre	40mm	35 mm	35 mm	30 mm	16mm
Durée de croissance	4 jours	4 jours	3 jours	5 jours	7 jours
Conidiophores	Dressés et terminé par une vésicule globuleuse.	Dressés et vésiculés.	Dressés et vésiculés.	Dressés et vésiculés.	Dressés et vésiculés.
Hyphes septés/non septés	Septé	Septé	Septé	Septé	Septé
Forme des spores	Rondes, souvent rugueuses, en chaînes	Courbées	Rondes, en chaînes	Sphériques, nombreuses	Sphériques, en amas
Phialides	Bisériées	Bisériées	Bisériées	Bisériées	Unisériées
Hypothèse de genre	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.

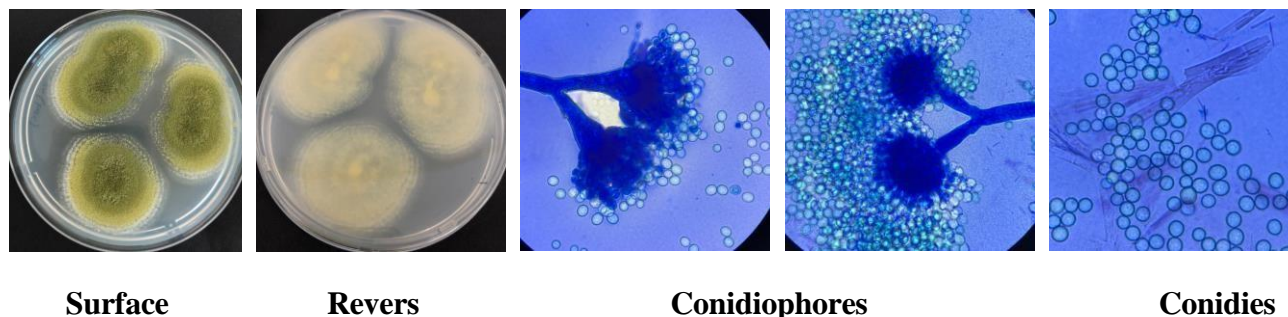


Figure 10 : Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH18 (*Aspergillus* sp. 1)

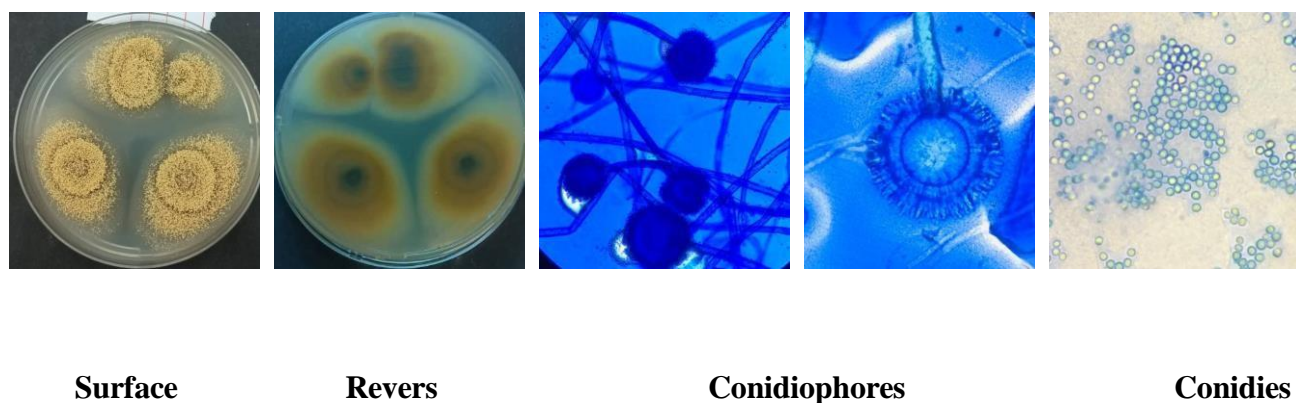


Figure 11: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH29 (*Aspergillus* sp. 2)

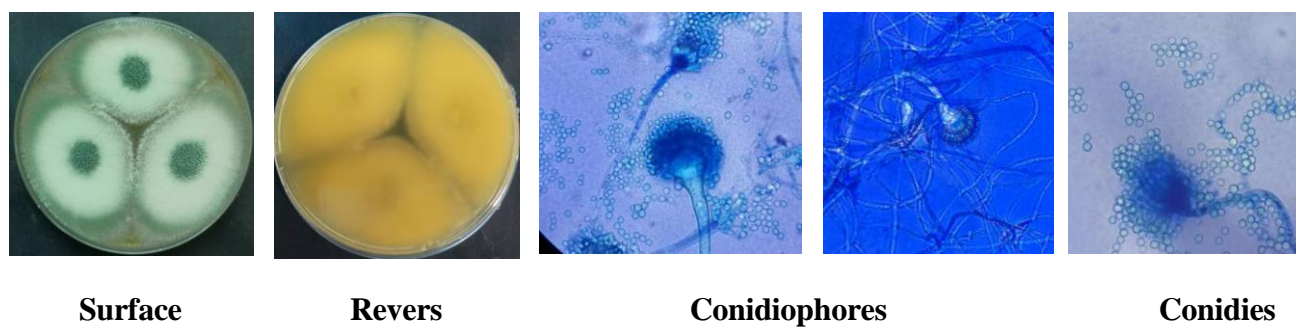


Figure 12: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH05 (*Aspergillus* sp. 3).

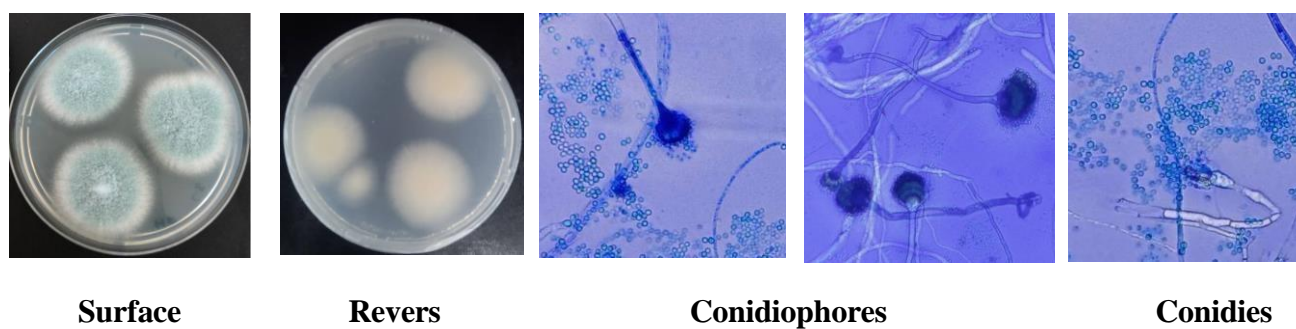


Figure 13: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et culturaux de l'isolat fongique CH08 (*Aspergillus* sp. 4)

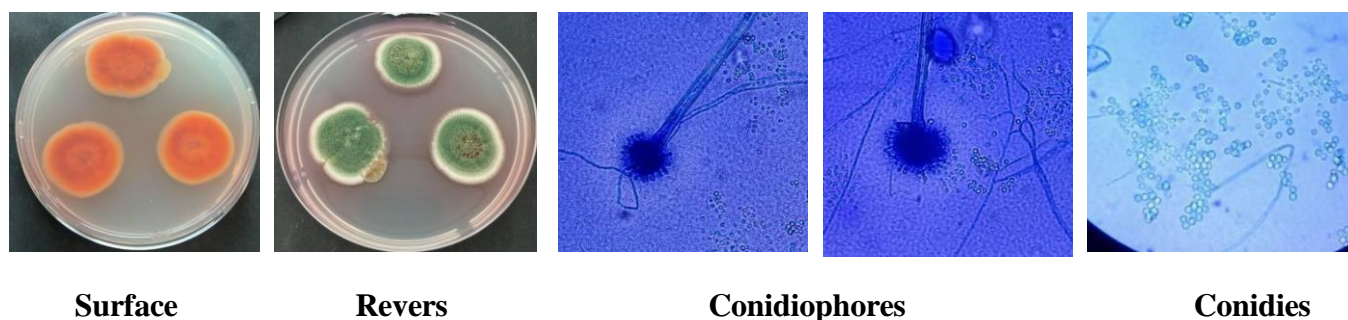


Figure 14: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et cultureux de l'isolat fongique CH44 (*Aspergillus* sp. 5).

À la lumière de ces résultats, une analyse comparative avec d'autres travaux antérieurs permet de mieux situer la présence et la diversité du genre *Aspergillus* dans les sols rhizosphériques. Dans l'étude menée par **Raghavanpillai Sabu et al. (2023)**, plusieurs champignons filamenteux ont été isolés à partir du sol rhizosphérique de la plante médicinale *Withania somnifera* (ashwagandha), collectée dans la réserve de biosphère d'Achanakmar, en Inde. Un total de cinq isolats fongiques ont été obtenus et identifiés sur la base d'observations morphologiques (macroscopiques et microscopiques). Les genres identifiés sont : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* et *Mucor*. L'isolat ABRF4 a été identifié comme *Aspergillus carneu*.

Dans une autre étude qui porté sur la diversité fongique de la rhizosphère de la plante médicinale *Swertia petiolata*, collectée dans la région de Gulmarg, au Cachemire himalayen (Inde). À partir des échantillons de sol rhizosphérique, 23 isolats fongiques ont été obtenus, et ont été répartis entre plusieurs genres, notamment *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Alternaria*, *Curvularia*, et *Rhizopus*. Parmi ceux-ci, le genre *Aspergillus* était représenté par trois espèces : *Aspergillus aflatoxiformans*, *A. niger* et *A. flavus*. (**Malik et al., 2025**).

Également, six souches fongiques ont été isolées à partir de la rhizosphère de *Mentha piperita*, collectée dans le jardin du Centre de Biotechnologie et Microbiologie de l'Université de Peshawar. L'identification de ces souches, fondée sur l'analyse détaillée de leurs caractéristiques morphologiques et microscopiques, a permis de reconnaître l'une d'entre elles comme *Aspergillus flavus* (**Khattak et al., 2021**). Dans le cadre de l'étude effectuée par **Kouman et al. (2024)**, 110 isolats appartenant au genre *Aspergillus* ont été obtenus à partir de sols de la rhizosphère de bananiers ainsi que de fruits et légumes en décomposition, collectés dans trois communes d'Abidjan (Côte d'Ivoire). Ces isolats ont été identifiés par des techniques d'observation macroscopique et microscopique, permettant de regrouper les souches en six espèces distinctes : *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. candidus*, *A. fumigatus*, *Aspergillus* sp1 et *Aspergillus* sp2.

III.2.2 L'isolat CH19

L'isolat CH19 se caractérise par une croissance rapide sur milieu PDA, formant des colonies à surface poudreuse à veloutée, vert-bleuté à vert olive et un revers jaune vif. L'observation microscopique révèle des conidiophores ramifiés en structures en forme de pinceau (pénicille), terminés par des phialides en forme de flacon portant des conidies sphériques organisées en chaînes. L'ensemble de ces critères permet de proposer une identification préliminaire de CH19 comme appartenant au genre *Penicillium* (figure 15).

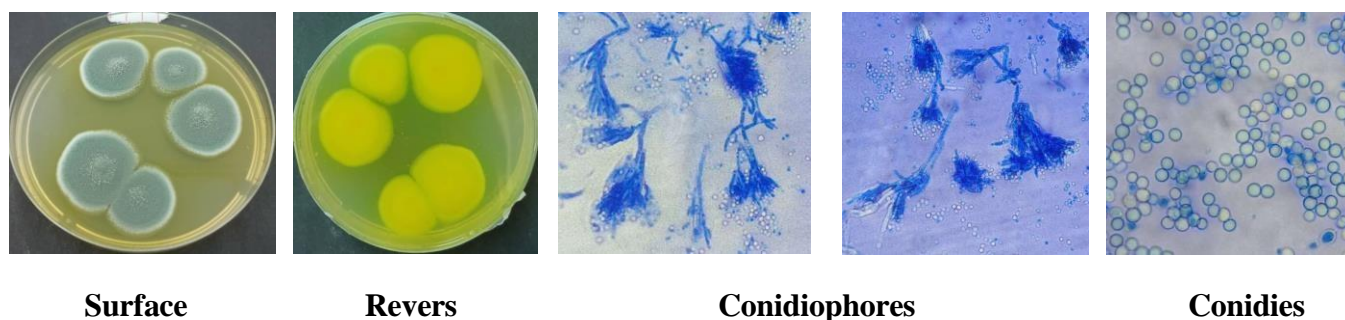


Figure 15: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et cultureux de l'isolat fongique Ch19 (*Penicillium* sp.)

De nombreuses publications ont décrit la diversité des espèces de *Penicillium* isolées de différents types de sols. L'une d'entre elles, réalisé en 2022 par **Kornilowicz-Kowalska et al. (2022)** a permis d'obtenir un total de 140 isolats fongiques à partir de la rhizosphère et du sol rhizosphérique de deux cultivars de blé amidonnier (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*). Parmi ces isolats, plusieurs ont été identifiés comme appartenant au genre *Penicillium*, détecté dans les deux types de sols étudiés. En 2022, le champignon *Penicillium* a été isolé à partir de la rhizosphère de la tomate (*Solanum lycopersicum*) en Côte d'Ivoire par **Coulibaly et al. (2022)** en tout, 153 isolats fongiques ont été obtenus. Parmi eux, deux isolats ont été identifiés comme appartenant à l'espèce *Penicillium citrinum*. D'autres genres fongiques ont également été détectés, notamment *Talaromyces*, représenté par quatre isolats.

Dans l'étude menée par **Petersen et al. (2019)**, plusieurs espèces fongiques ont été isolées à partir de la rhizosphère de la plante marine *Zostera marina*, collectée dans la mer Baltique. Parmi les treize souches fongiques identifiées, le genre *Penicillium* a été fortement dominant, avec dix isolats répartis entre trois espèces : *Penicillium antarcticum*, *P. atramentosum* et *P. atrovnetum*. Une étude récente réalisée en Corée du Sud a permis d'isoler 64 souches du genre *Penicillium* à partir des sols rhizosphériques de six plantes : *Rhododendron brachycarpum*, *Sorbus commixta*,

Taxus cuspidata (habitats forestiers), et *Calystegia soldanella*, *Lathyrus japonicus*, *Orobanche coerulescens* (habitats côtiers). Les espèces identifiées comprennent notamment *Penicillium aurantioviolaceum*, *P. bissettii*, *P. cairnsense*, *P. halotolerans*, *P. kananaskense*, *P. ortum*, *P. radiatolobatum* et *P. verhagenii*. (Park et al., 2020).

III.2.3 L'isolat CH38

L'isolat CH38 cultivé sur milieu PDA forme des colonies à croissance rapide, présentant une texture cotonneuse, compacte à légèrement aérienne. La surface est blanche, tandis que le revers est de couleur beige. L'observation microscopique révèle la présence d'abondants conidiophores simples ou ramifiés, portant des phialides. Les macroconidies, fusiformes, possèdent plusieurs cloisons (septées) et présentent des extrémités légèrement effilées, tandis que des microconidies, plus petites et ovoïdes, sont souvent regroupées en fausses têtes. En comparant les caractéristiques morphologiques des isolats décrits dans les études ultérieures avec celles de la souche CH38, il est raisonnable de déduire que cette dernière appartient également au genre *Fusarium* (figure 16).

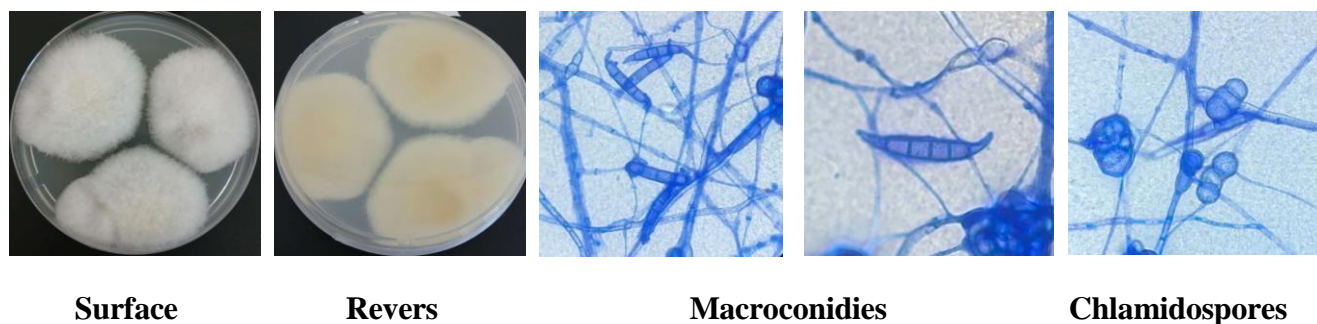


Figure 16: Aspects morphologiques ; macroscopiques et microscopiques et cultureux de l'isolat fongique CH38 (*Fusarium* sp.)

De nombreuses études antérieures ont permis d'isoler plusieurs espèces appartenant au genre *Fusarium*. Notamment, l'étude menée par **Abouamama et al. (2023)** qui a permis d'isoler et d'identifier des champignons filamenteux à partir de sols rhizosphériques prélevés dans la région saharienne de Tamanrasset (Algérie). Au total, onze souches ont été recensées, appartenant aux genres *Fusarium* (*Fusarium* sp.1, *Fusarium* sp.2), *Aspergillus* (*A. niger*, *Aspergillus* sp.1, *Aspergillus* sp.2), *Alternaria* (*Alternaria* sp.1, *Alternaria* sp.2), *Cladosporium*, *Curvularia*, *Mucor* et *Penicillium*.

Dans l'étude réalisée par **Ahmed et al. (2022)**, la diversité fongique de la rhizosphère de deux plantes cultivées, la papaye (*Carica papaya* L.) et l'aubergine (*Solanum melongena* L.), a été analysée sur le site et du campus BCSIR à Rajshahi, Bangladesh. Un total de six espèces fongiques ont été isolées et identifiées. Parmi celles-ci, une espèce appartenant au genre *Fusarium* a été identifiée : *Fusarium oxysporum*, détectée à la fois dans la rhizosphère de la papaye et de l'aubergine en présence d'autres espèces fongiques courantes dans les sols agricoles. Dans une autre étude similaire, le genre *Fusarium* a été détecté dans la rhizosphère de différentes espèces de blé, aux côtés d'autres genres fongiques couramment présents tels que *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* et *Cladosporium* (**Abdullaeva et al., 2024**).

Hasani et al. (2017), au cours de laquelle 256 souches fongiques ont été isolées à partir de la rhizosphère de la canne à sucre dans la province de Khuzestan, au sud de l'Iran. Ils ont identifié 18 espèces appartenant au genre *Fusarium*, parmi lesquelles *F. miscanti*, *F. proliferatum* et *F. verticillioides* étaient les plus fréquentes, notamment, *F. miscanti* a été signalée pour la première fois dans la mycoflore iranienne.

À partir de nos résultats, il ressort que le genre *Aspergillus* occupe une place prépondérante parmi les isolats fongiques obtenus, suggérant une forte capacité de colonisation du sol rhizosphérique. Cette dominance observée est en accord avec plusieurs études récentes ayant mis en évidence la prédominance de ce genre dans les sols rhizosphériques, soulignant son rôle écologique majeur dans ces environnements. En 2021 une étude réalisée en Corée du Sud a permis d'isoler 13 souches appartenant à ce genre à partir des racines de trois plantes différentes, révélant une diversité importante d'espèces (**Lee et al., 2021**).

Cette découverte illustre non seulement la richesse taxonomique d'*Aspergillus*, mais aussi sa large distribution dans les niches rhizosphériques. Dans une autre étude similaire, le champignon *Aspergillus* a été isolé à partir de la plante *Aegiceras corniculatum*, un arbre côtier, où il représentait à lui seul 53,7 % des isolats fongiques, confirmant ainsi sa position dominante au sein des communautés microbiennes associées aux racines. Ces résultats suggèrent que ce genre fongique possède des capacités d'adaptation et de colonisation particulièrement efficaces dans divers types de sols rhizosphériques, ce qui pourrait expliquer sa récurrence dans les profils fongiques de nombreuses plantes hôtes (**Wang et al., 2019**).

III.3 Activité antimicrobienne des extraits fongiques

III.3.1 Techniques des puits

Afin d'évaluer le potentiel antimicrobien des métabolites extracellulaires produits par les isolats fongiques, des extraits à l'acétate d'éthyle ont été préparé à partir du milieu de culture, puis testés par la technique des puits en gélose (well diffusion) contre une série de bactéries pathogènes ainsi qu'une levure (*C. albicans*).

Les extraits fongiques de *Fusarium* sp. (CH38) et *Penicillium* sp.1 (CH19) ont montré une activité antimicrobienne notable contre plusieurs bactéries Gram positives et certaines Gram négatives, suggérant un large spectre d'efficacité. En revanche, les extraits d'*Aspergillus* sp.4 (CH8) et *Aspergillus* sp.3 (CH5) ont montré des activités limitées, principalement contre quelques bactéries Gram positives, avec une inefficacité contre la majorité des bactéries Gram négatives et *C. albicans*.

Parmi les bactéries les plus sensibles, *S. pyogenes*, *B. cereus*, et *M. luteus* ont montré les zones d'inhibition les plus grandes, particulièrement contre les extraits de *Fusarium* sp. (CH38) et *Penicillium* sp. (CH19). En revanche, les bactéries les plus résistantes incluent *P. aeruginosa*, *L.monocytogenes*, et *C. albicans*, qui ont montré une résistance totale ou partielle à plusieurs extraits fongiques.

Les résultats ont montré que l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Penicillium* sp. (CH19) possédait une activité inhibitrice marquée contre plusieurs souches bactériennes. La plus grande zone d'inhibition a été observée avec *S. pyogenes* (19,75 mm), suivie de *K. pneumoniae* et *B. cereus* (19,5 mm chacun), *M. luteus* (19 mm), et *S. aureus* (17,5 mm). Une inhibition modérée a été notée contre *E. faecalis* (15 mm) et *S. typhimurium* (14 mm), tandis que l'activité la plus faible a été enregistrée contre *E. coli* (12 mm). En revanche, aucune activité n'a été détectée contre *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* et *C. albicans*, soulignant une certaine spécificité de l'extrait vis-à-vis de certaines bactéries, notamment les Gram positifs (**figure 17**).

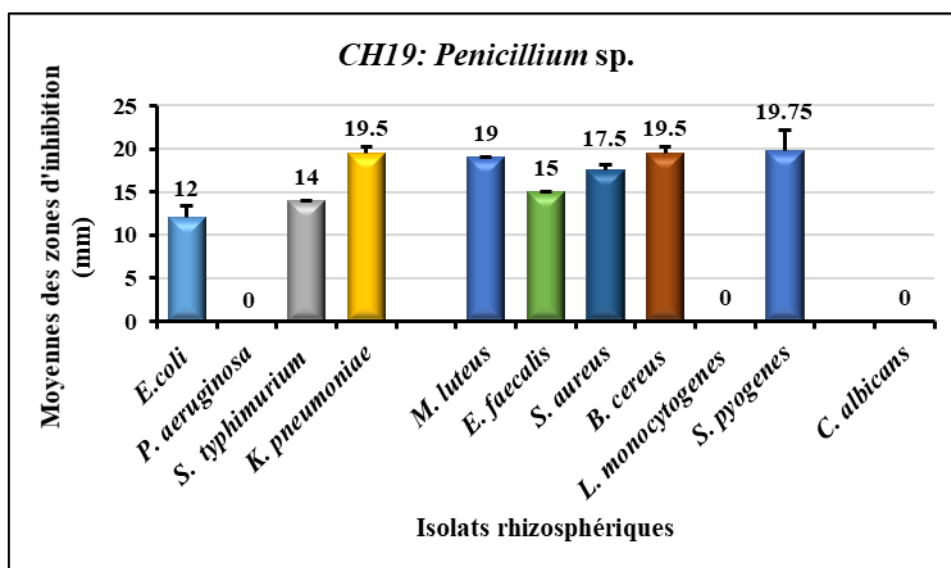


Figure 17: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH19 (*Penicillium sp.*) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

Les résultats de l'extrait de l'isolat *Aspergillus sp.2* (CH29) ont révélé une activité antimicrobienne variée, avec des zones d'inhibition allant de 12,5 mm à 22,5 mm. Cet extrait a montré une activité significative contre plusieurs bactéries, en particulier *S. pyogenes*, pour lequel une zone d'inhibition de 22,5 mm a été observée. Une forte activité a également été notée contre *K. pneumoniae* et *S. aureus*, avec des zones d'inhibition de 19 mm et 20 mm respectivement. D'autres bactéries comme *M. luteus* et *C. albicans* ont également été inhibées avec des zones d'inhibition de 20 mm chacune. Des inhibitions modérées ont été observées contre *S. typhimurium* (16,5 mm) et *E. coli* (17 mm), tandis que l'activité contre *E. faecalis* (12,75 mm) et *B. cereus* (12,5 mm) était plus faible. Aucune activité n'a été détectée contre *P. aeruginosa* et *L. monocytogenes*, ce qui indique une inefficacité de l'extrait vis-à-vis de ces deux pathogènes spécifiques (**figure 18**).

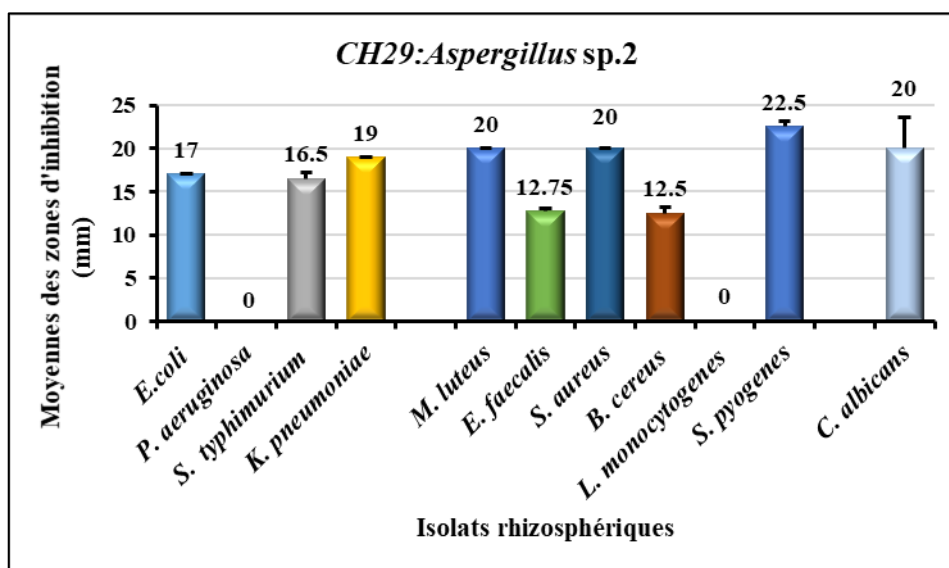


Figure 18: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH29 (*Aspergillus sp.2*) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

L'extrait à l'acétate d'éthyle de *Fusarium sp.* (CH38) a montré une activité antimicrobienne principalement dirigée contre les bactéries Gram positives. Des zones d'inhibition notables ont été observées contre plusieurs bactéries Gram positives, avec la plus grande zone d'inhibition enregistrée contre *Bacillus cereus* (26 mm), suivie de *S. pyogenes* (24 mm), *M. luteus* (23,5 mm), *S. aureus* (22,5 mm) et *E. faecalis* (21 mm). Toutefois, l'extrait s'est révélé inactif contre toutes les bactéries Gram négatives testées, à savoir *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, et *L. monocytogenes*, ainsi que contre la levure *C. albicans* (**figure 19**).

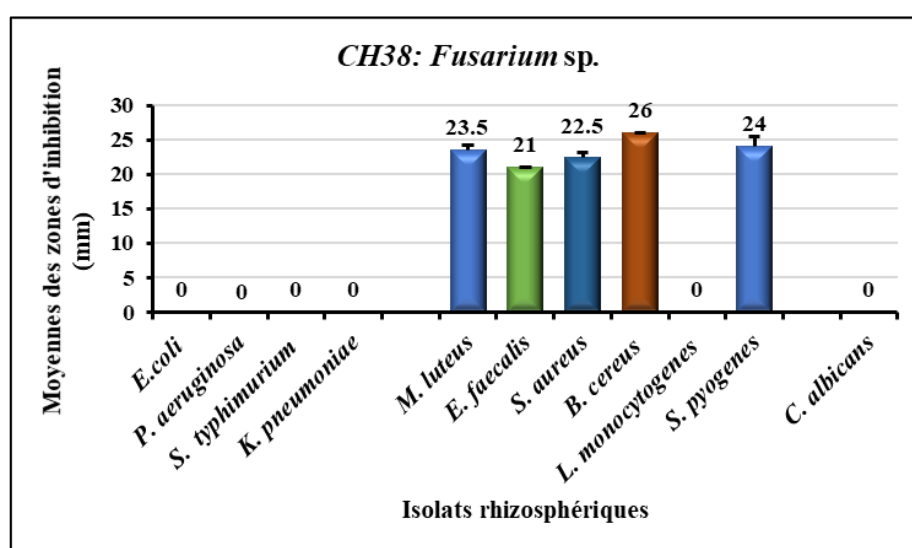


Figure 19: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH38 (*Fusarium sp.*) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

Les extraits à l'acétate d'éthyle des isolats *Aspergillus* sp.4 (CH8) et *Aspergillus* sp.3 (CH5) ont montré des activités antimicrobiennes variées, principalement contre certaines bactéries Gram positives. Pour CH8, l'extrait a produit des zones d'inhibition de 19,5 mm contre *B. cereus*, 16 mm contre *Staphylococcus aureus*, 14,75 mm contre *S. pyogenes*, et 14 mm contre *M. luteus*. En ce qui concerne CH5, l'extrait a montré des zones d'inhibition plus faibles, avec 18,75 mm contre *B. cereus*, 13 mm contre *M. luteus*, 11,5 mm contre *E. faecalis* et 11 contre *S. aureus*. Toutefois, ces extraits ont également montré une absence totale d'activité contre *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, et *C. albicans* (figure 20 et 21).

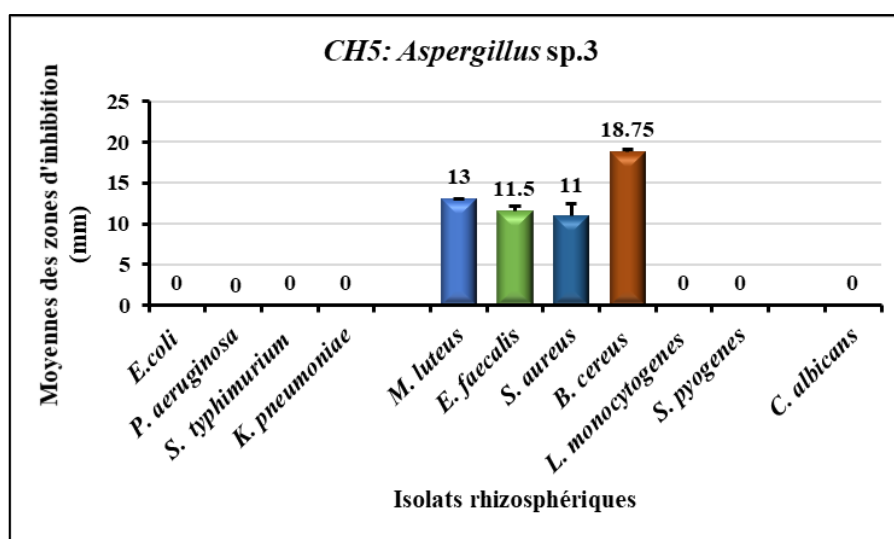


Figure 20: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH5 (*Aspergillus* sp.3) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

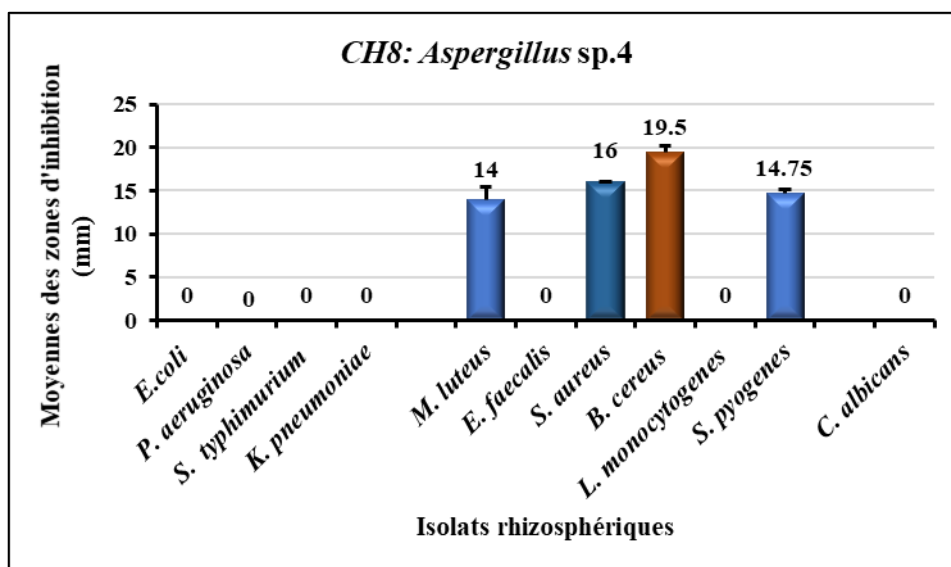


Figure 21: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH8 (*Aspergillus* sp.4) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

L'extrait à l'acétate d'éthyle de *Aspergillus* sp.1 (CH18) a montré une activité antimicrobienne restreinte. Une zone d'inhibition de 14 mm a été observée contre *P. aeruginosa*, et une activité modérée a été enregistrée contre *B. cereus* (18 mm) et *E. faecalis* (16 mm). L'extrait a montré une absence totale d'activité contre la plupart des autres bactéries (**figure 22**). En revanche, comparé aux autres extraits fongiques qui ont montré des activités variables, l'extrait de l'isolat *Aspergillus* sp.5 (CH44) s'est révélé le moins efficace, ne présentant une activité antimicrobienne que contre *Bacillus cereus*, avec une zone d'inhibition modérée de 15 mm. Cette faible activité suggère une production réduite ou une absence de composés bioactifs dans les conditions expérimentales utilisées, ou une spécificité très étroite vis-à-vis de certaines souches bactériennes.

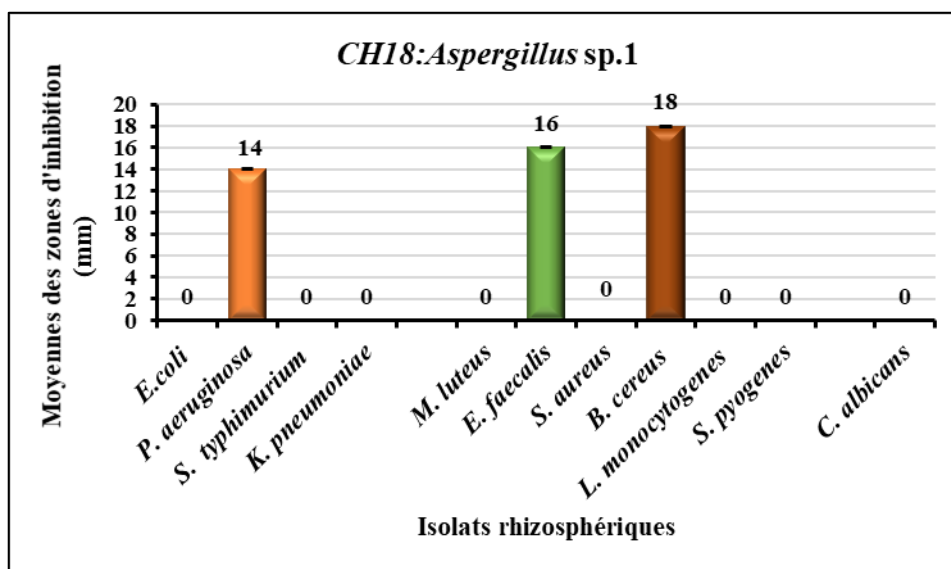


Figure 22: Activité antibactérienne de l'extrait d'acétate d'éthyle du CH18 (*Aspergillus* sp.1) contre les germes testés. Les valeurs sont présentées en moyenne de deux essais \pm écart-type (SD).

Les antibiotiques de référence ont démontré une activité antimicrobienne globalement plus élevée que celle des extraits fongiques. La ciprofloxacine, en particulier, a affiché les plus larges zones d'inhibition, atteignant 35 mm contre *B. cereus* et 30 mm contre *P. aeruginosa*, ce qui témoigne de son large spectre d'action sur les bactéries Gram positif et Gram négatif. En comparaison, le meilleur extrait fongique (issu de *Fusarium* sp.) a généré une zone maximale de 26 mm, uniquement contre *B. cereus*.

La gentamicine a montré une activité modérée à élevée, avec des zones allant de 15 mm à 23 mm, relativement proches de certains extraits fongiques comme ceux de *Aspergillus* sp.2 et

Penicillium sp. notamment contre *S. pyogenes*, *K. pneumoniae* et *S. aureus*. Ces résultats permettent que certains extraits fongiques pourraient offrir une activité comparable à celle de la gentamicine, particulièrement contre les cocci Gram positif.

Quant à la ceftazidime, son activité a été plus restreinte, avec des zones d'inhibition variant de 11 mm à 18 mm, et elle a été totalement inefficace contre *E. faecalis* et *S. pyogenes* (zones nulles). Certains extraits fongiques, notamment ceux de *Fusarium* sp. et *Aspergillus* sp.2, ont surpassé la ceftazidime contre ces souches, suggérant une meilleure efficacité des métabolites fongiques dans certains cas ciblés.

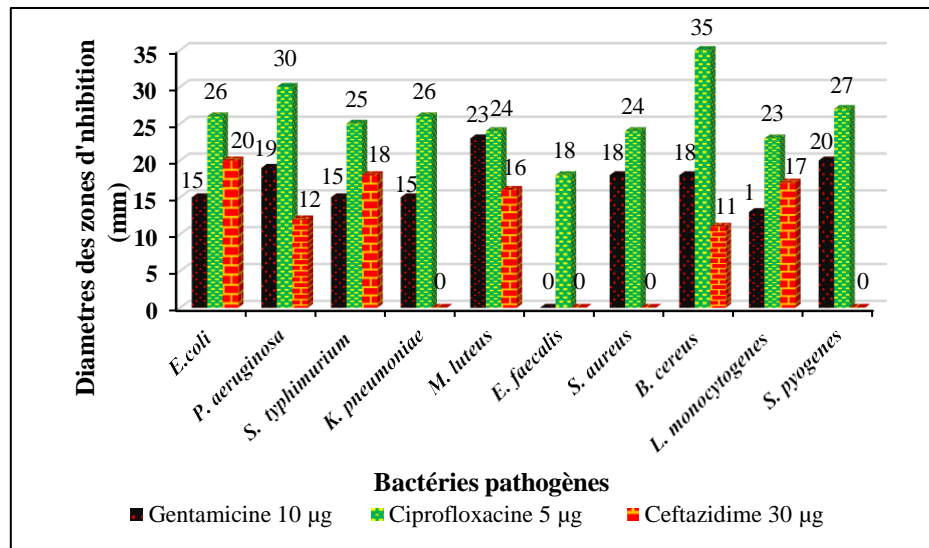


Figure 23: Effet des Antibiotiques Standards sur les Bactéries Pathogènes

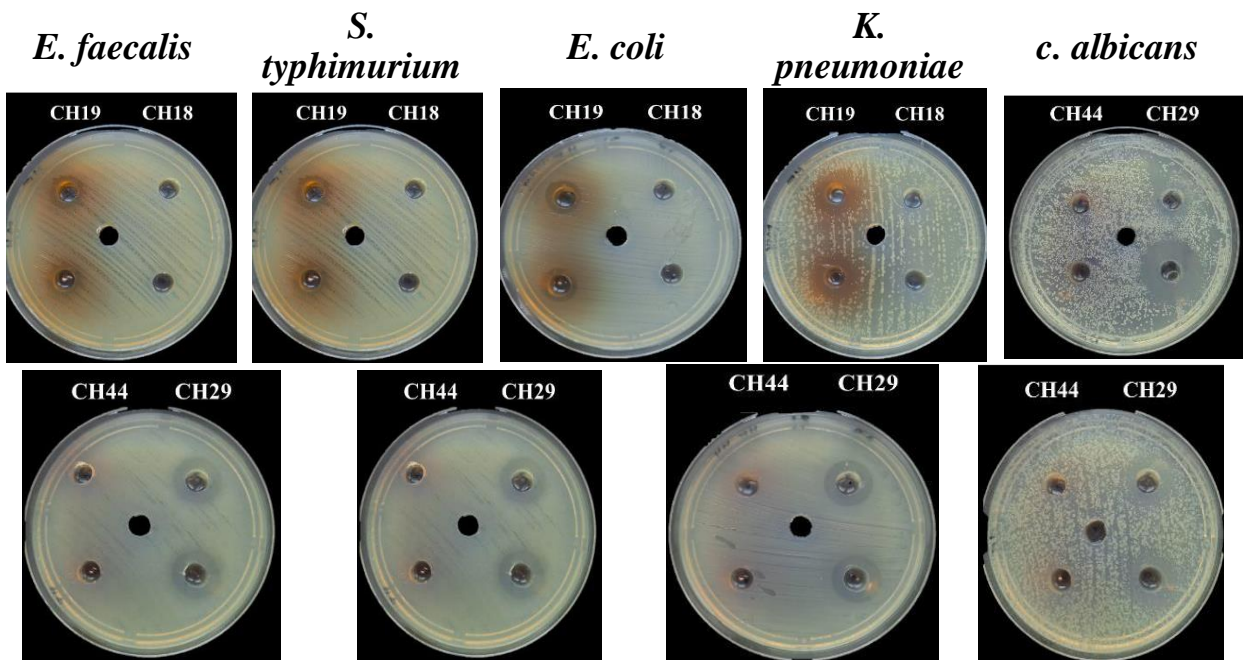


Figure 24 : Photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des puits.

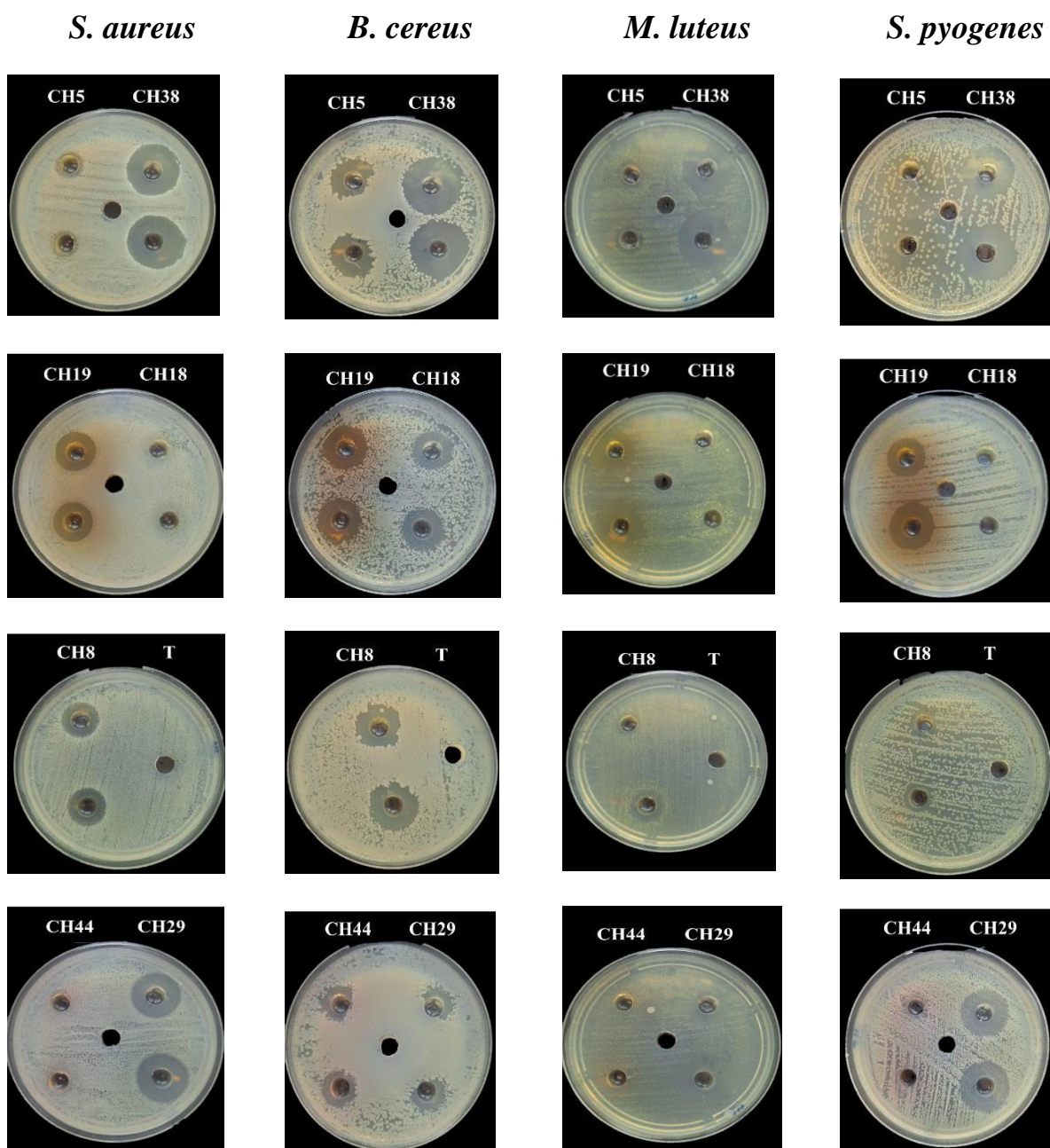


Figure 24 (Suite) : Photos représentent l'activité antibactérienne obtenue par la méthode des puits.

III.3.2 Détermination de la CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) représente la plus faible concentration d'un agent antimicrobien nécessaire pour inhiber visiblement la croissance d'un micro-organisme après une incubation standardisée. Cette mesure est essentielle pour évaluer la puissance d'un extrait ou d'un composé antimicrobien. Selon les normes de l'EUCAST, la méthode de microdilution en microplaque est couramment utilisée. Elle consiste à préparer une série de dilutions successives de

l'extrait dans un milieu de culture liquide, en présence de la bactérie cible, et à observer l'absence de croissance après incubation. Une faible valeur de CMI indique une forte activité antimicrobienne.

Dans la présente étude, deux extraits fongiques ont été évalués : *Aspergillus* sp.2 (CH29) et *Fusarium* sp. (CH38). L'extrait d'*Aspergillus* sp.2 a montré une activité remarquable à faible selon les souches ciblées. Les CMI les plus faibles ont été obtenus contre *E. coli*, *S. typhimurium*, *M. luteus*, *E. faecalis* et *C. albicans*, toutes à 1.024 mg/mL, traduisant une activité antibactérienne importante. Une efficacité moindre est observée contre *K. pneumoniae* (4.096 mg/mL) et *S. aureus*, *B. cereus*, *S. pyogenes* (2.048 mg/mL), ce qui suggère une activité plus faible contre ces bactéries, notamment les cocci Gram positifs.

En revanche, l'extrait de *Fusarium* sp. Se distingue par une activité plus marquée, notamment contre les bactéries à Gram positif. Les CMI les plus faibles ont été enregistrés contre *B. cereus* et *M. luteus* (0,128 mg/mL), ainsi que *S. aureus* (0,256 mg/mL), indiquant une très bonne activité antibactérienne. Une activité plus modérée est observée contre *E. faecalis* (2,048 mg/mL) et une activité faible contre *S. pyogenes* (4,096 mg/mL). Le solvant DMSO, utilisé comme témoin négatif, n'a montré aucune activité inhibitrice, confirmant que les effets observés sont bien dus aux extraits fongiques.

Tableau 3: Les valeurs des CMI (mg/mL) obtenues par l'extrait d'acétate d'éthyle de l'isolat CH29 (*Aspergillus* sp.2) et l'isolat CH38 (*Fusarium* sp.) contre les différentes bactéries pathogènes

Bactéries pathogènes	Les valeurs de CMI (mg/ml)		
	Extrait d' <i>Aspergillus</i> sp.2	Extrait de <i>Fusarium</i> sp.	DMSO
<i>Salmonella typhimurium</i>	1.024	/	00
<i>Escherichia coli</i>	1.024	/	00
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4.096	/	00
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.048	0.256	00
<i>Bacillus cereus</i>	2.048	0.128	00
<i>Micrococcus luteus</i>	1.024	0.128	00
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2.048	4.096	00
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.024	2.048	00
<i>Candida albicans</i>	1.024	/	00

Les extraits à l'acétate d'éthyle des différentes souches du genre *Aspergillus* obtenus dans notre étude ont montré un potentiel antimicrobien intéressant, bien que les résultats varient selon les souches et les micro-organismes testés. Cette variation est conforme à ce qui a été observé dans d'autres travaux scientifiques. Parmi elles on peut citer celle de, **Anbuselvan et al. (2025)**, l'extrait d'*Aspergillus niger* RAS 3 a montré une activité très forte, avec une zone d'inhibition de 38 mm contre *Bacillus subtilis*, ainsi qu'une action importante contre *Shigella* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *E. coli* et *Salmonella typhi*. De son côté, un composé pur isolé d'*Aspergillus terreus*, appelé HDOCOX, a montré une activité antimicrobienne à large spectre, ayant été testé contre plusieurs souches bactériennes et fongiques, notamment *E. coli*, *S. aureus*, *Enterobacter cloacae* et *C. albicans*. Selon les résultats du test de diffusion en puits sur milieu solide (agar well diffusion), HDOCOX a enregistré des zones d'inhibition significatives, atteignant 35,15 mm contre *E. coli*, 33 mm contre *S. aureus*, ainsi que 31 mm contre *E. cloacae* et 34 mm contre *C. albicans*. (**El-Gazzar et al., 2025**). D'après **Baz et al. (2024)**, *A. terreus* a présenté une très bonne efficacité contre *E. coli* (35,3 mm, CMI 20 µg/mL) et *Enterobacter cloacae* (36,1 mm), tandis que *A. niger* a montré une activité plus faible contre certaines bactéries comme *P. aeruginosa* (17 mm, CMI 500 µg/mL).

En comparaison avec l'étude de **Shehabeldine et al. (2024)**, qui rapporte une activité antimicrobienne modérée de l'extrait d'*Aspergillus terreus* avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) allant de 18,75 mg/mL (*Enterobacter aerogenes*) à 75,00 mg/mL (*S. aureus*), notre extrait fongique se révèle nettement plus puissant. En effet, les CMI obtenues dans notre étude sont significativement plus faibles, variant entre 1.024 et 4.096 mg/mL. Par exemple, contre *E. coli* et *S. typhimurium*, notre extrait affiche une CMI de 1.024 mg/mL, soit une efficacité supérieure à celle observée avec l'extrait d'*A. terreus*. Même pour des souches réputées résistantes comme *K. pneumoniae*, notre extrait reste actif avec une CMI de 4.096 mg/mL, bien en deçà des valeurs rapportées dans l'article de référence. Ces résultats soulignent la richesse en métabolites bioactifs de notre extrait et confirment son fort potentiel antimicrobien.

Nos résultats concernant les extraits de *Penicillium* peuvent être comparés à ceux rapportés par **Chemmam et al. (2024)**, qui ont étudié l'activité antimicrobienne de l'extrait brut de *Penicillium hordei* PA2, isolé du sable marin en Algérie orientale. Leur étude a mis en évidence une forte activité antibactérienne, avec une zone d'inhibition maximale de 24 mm contre *S. aureus* résistant à la méthicilline, ainsi que des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises

entre 4,37 et 70 µg/mL. Une activité significative a également été observée contre *P. aeruginosa* (20 mm) et *E. faecalis* (21 mm). Cette efficacité remarquable a été attribuée à la richesse de l'extrait en métabolites secondaires, notamment des composés phénoliques, des flavonoïdes et des tanins. Ces résultats confirment le potentiel pharmacologique des souches marines du genre *Penicillium*, soulignant leur intérêt comme sources prometteuses de molécules bioactives. **AbdelRazek et al. (2024)** ont rapporté une activité antimicrobienne notable d'extraits issus de *P. oxalicum* contre *S. aureus*, avec des zones d'inhibition variant de 17 à 29 mm et des CMI comprises entre 4 et 12 mg/mL.

Dans le même contexte, les extraits éthyliques de *P. lanosum* (EAE-PL) et *P. radiatolobatum* (EAE-PR), isolés du sol rhizosphérique de la plante de menthe (*Mentha*), ont également montré une activité antibactérienne variable selon les espèces bactériennes ciblées. L'extrait EAE-PR s'est révélé le plus actif, présentant des zones d'inhibition comprises entre 11 mm et 19 mm contre *S. aureus*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* et *Salmonella enterica*. Les CMI associées étaient de 125 µg/mL pour *S. aureus*, 31,25 µg/mL pour *B. cereus* et *L. monocytogenes*, et 62,5 µg/mL pour *E. coli* et *S. enterica*. En revanche, l'extrait EAE-PL a affiché une activité plus modeste, avec des zones d'inhibition maximales de 11,5 mm, et des CMI atteignant 500 µg/mL pour *B. cereus*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*, 125 µg/mL pour *E. coli*, et 250 µg/mL pour *S. enterica*. Ces observations mettent en évidence non seulement la supériorité de *P. radiatolobatum* en termes d'activité antimicrobienne, mais aussi le potentiel considérable des espèces rhizosphériques du genre *Penicillium* comme réservoirs de métabolites bioactifs ciblant efficacement les bactéries Gram-positives et Gram-négatives (**Jamshed et al., 2023**).

Les résultats obtenus dans notre étude montrent que l'extrait à l'acétate d'éthyle de *Fusarium* sp. (CH38) présente une activité antibactérienne nettement supérieure à celle rapportée dans l'étude de *F. oxysporum* isolé du tubercule de *Dahlia variabilis*. En effet, notre extrait a généré de larges zones d'inhibition, atteignant 26 mm contre *Bacillus cereus* avec CMI de 0,256 mg/mL et 22,5 mm contre *S. aureus* et CMI de 0,256 mg/mL. À titre comparatif, l'extrait de *F. oxysporum* a présenté une zone d'inhibition maximale de seulement 15,24 mm contre *S. aureus*, à une concentration de 1,9 mg/mL, ce qui indique une efficacité moindre. Ainsi, notre extrait se distingue non seulement par un effet plus puissant, mais également par une meilleure performance à des concentrations plus faibles, soulignant son potentiel élevé en tant qu'agent antimicrobien, en particulier contre les bactéries à Gram positif. (**Marlinda et al., 2019**).

Selon une étude antérieure *F. equiseti* isolé de *Mikania cordata* a montré une activité antimicrobienne significative contre plusieurs bactéries pathogènes humaines. Les tests de diffusion sur disque ont révélé des zones d'inhibition mesurant 20,3 mm pour *B. cereus*, 18 mm pour *S. aureus*, 20,7 mm pour *E. coli* et 23 mm pour *P. aeruginosa*. De plus, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'extrait d'éthyl-acétate de *F. equiseti* étaient comprises entre 0,35 et 0,15 mg/ml pour les quatre bactéries testées, ce qui reflète une forte efficacité antimicrobienne à faibles concentrations. Cette activité est attribuée à la production de divers composés bioactifs tels que les phénols, alcaloïdes, quinones et flavonoïdes, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ces résultats soulignent le potentiel pharmacologique élevé de *F. equiseti* en tant que source naturelle de molécules antimicrobiennes à intérêt thérapeutique futur (**Jayatilake & Munasinghe, 2020**). Plusieurs espèces de champignons produisent des métabolites secondaires bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. L'acide fumarique est fréquemment isolé de certaines souches de *Fusarium*, démontrant une activité contre divers pathogènes (**Amuzu et al., 2024 ; Nazir et al., 2024**).

Les résultats obtenus à travers les tests de concentration minimale inhibitrice (CMI) ainsi que les mesures des diamètres des zones d'inhibition révèlent une tendance marquée en faveur d'une activité antibactérienne plus prononcée des extraits vis-à-vis des souches à Gram positif. En effet, une inhibition significative a été systématiquement observée chez ces dernières, tandis que les bactéries à Gram négatif se sont montrées globalement moins sensibles, voire totalement résistantes dans certains cas. Ces observations concordent avec celles rapportées par **Sadrati (2021)**, qui a également constaté que la majorité des extraits testés présentaient une activité limitée aux bactéries à Gram positif, seuls quelques isolats se révélant efficaces contre les deux types bactériens. Cette prédominance d'efficacité à l'égard des bactéries à Gram positif pourrait s'expliquer par leur structure cellulaire plus perméable, contrairement aux bactéries à Gram négatif, dont la paroi externe, riche en lipopolysaccharides, constitue une barrière limitant la pénétration de nombreux agents antimicrobiens (**Sadrati et al., 2023**).

Conclusion et perspectives

IV. Conclusion et perspectives

Le présent travail a porté sur l'exploration du potentiel antimicrobien de champignons isolés à partir de la rhizosphère de *Lavandula stoechas* L et *Triticum durum*. Un total de 44 isolats fongiques a été obtenu et soumis à un criblage de leur activité contre plusieurs micro-organismes pathogènes d'importance clinique, notamment *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*. Le criblage préliminaire a révélé que certains isolats présentaient une activité antibactérienne notable, en particulier contre *S. aureus*, traduisant un potentiel ciblé contre les bactéries Gram positives.

Sept isolats fongiques prometteurs ont ensuite été sélectionnés pour une caractérisation morphologique ainsi qu'une évaluation approfondie de leur activité antimicrobienne. L'identification morphologique des isolats actifs a mis en évidence une prédominance du genre *Aspergillus* (CH5, CH8, CH18, CH29, CH44), suivi des genres *Penicillium* (CH19) et *Fusarium* (CH38), tous connus pour leur capacité à produire des métabolites secondaires bioactifs.

Afin d'évaluer le pouvoir antimicrobien de ces souches, des extraits ont été obtenus par fermentation, suivie d'une extraction à l'acétate d'éthyle. Ces extraits ont été testés, selon la méthode des puits en gélose, contre une large gamme de micro-organismes pathogènes incluant : *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *B.cereus*, *M. luteus*, *S. pyogenes*, *E. faecalis* ainsi que la levure *C. albicans*.

Penicillium sp. (CH19) et *Fusarium* sp. (CH38) ont mis en évidence une activité antimicrobienne significative, notamment contre les bactéries Gram positives. De son côté, *Aspergillus* sp. (CH29) a montré un spectre d'action plus étendu, incluant certaines souches Gram négatives. En revanche, des germes tels que *P. aeruginosa* et *L. monocytogenes* ont montrés globalement une résistance aux extraits testés. Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) ont confirmé ces observations, avec une efficacité particulièrement marquée pour *Fusarium* sp. (CH38), dont l'activité s'est avérée, dans certains cas, équivalente ou supérieure à celle d'antibiotiques de référence comme la ceftazidime.

En répondant à l'hypothèse formulée en introduction, cette étude a confirmé que les champignons rhizosphériques associés aux racines de *Triticum durum* et *Lavandula stoechas* L peuvent constituer une source précieuse de composés antimicrobiens naturels. Elle ouvre également la voie à des recherches plus approfondies, notamment dans l'identification chimique des métabolites impliqués, l'optimisation des conditions de culture, et la compréhension des

mécanismes d'action de ces substances. Dans un contexte où la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue une problématique majeure de santé publique.

Cette étude ouvre plusieurs perspectives prometteuses, que l'on peut résumer comme suit :

- Évaluer l'activité, antioxydante et anticancéreuse des extraits sur des lignées cellulaires humaines, dans le but d'apprécier leur potentiel pharmacologique global.
- Effectuer une identification moléculaire (séquençage de l'ADNr ITS et d'autres gènes marqueurs) des isolats actifs, afin de préciser leur statut phylogénétique.
- Études in vivo et toxicologiques en vue de valider la sécurité et l'efficacité des composés identifiés pour une application pharmacologique future
- Optimiser les conditions de culture et de fermentation en vue d'améliorer la production des métabolites bioactifs,

Références bibliographiques

V. Références bibliographiques

A

Al-Abbasi S. H. A., Al-Majmaei A. A. M., Al-Naqib A. T. H., Hameed A. M., Al-Samarraie M. Q., & H Altaef, A. (2021). Isolation and identification of some fungi from rhizospheric soils of some wild plants at Samarra University, Iraq. *Caspian Journal of Environmental Sciences* 19(5), 829-839. <https://doi.org/10.22124/CJES.2021.5232>

Ahmed, S., Chowdhury, A. N., Dey, A. K., Moniruzzaman, M., & Kowser, A. (2022). Isolation and Identification of Rhizosphere Soil Fungi from Papaya (*Carica papaya* L.) and Eggplant (*Solanum melongena* L.) at BCSIR Campus in Rajshahi, Bangladesh. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 12(4), 21–26. <https://doi.org/10.29322/IJSRP.12.04.2022.p12404>.

Abouamama, S., Anis, B., Abir, S., Maroua, H., & Sirine, B. (2023). Amylolytic and antibacterial activity of filamentous fungi isolated from the rhizosphere of different plants grown in the Tamanghasset region. *Heliyon*, 9(3), e14350. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14350>.

AbdelRazek, M. M. M., Elissawy, A. M., Mostafa, N. M., Moussa, A. Y., Elshanawany, M. A., & Singab, A. N. B. (2024). Bioactive secondary metabolites from fungal endophytes, *Penicillium oxalicum* and *Phoma herbarum*, associated with *Morus nigra* and *Ficus sycomorus*: an in silico study. *Royal Society of Chemistry Advances*, 14(49), 36451–36460. <https://doi.org/10.1039/d4ra06840h>.

Abdullaeva, Y., Ratering, S., Rosado-Porto, D., Ambika Manirajan, B., Glatt, A., Schnell, S., & Cardinale, M. (2024). Domestication caused taxonomical and functional shifts in the wheat rhizosphere microbiota, and weakened the natural bacterial biocontrol against fungal pathogens. *Microbiological research*, 281, 127601. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127601>.

Amuzu, P., Pan, X., Hou, X., Sun, J., Jakada, M. A., Odigie, E., Xu, D., Lai, D., & Zhou, L. (2024). Recent Updates on the Secondary Metabolites from *Fusarium* Fungi and Their Biological Activities (Covering 2019 to 2024). *Journal of Fungi*, 10(11), 778. <https://doi.org/10.3390/jof10110778>.

Anbuselvan, S., Sanjaikumar, V., Nabisha, S., Ramesh, T., & Thangaraj, M. (2025). In vitro antimicrobial potentials of halophilic *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus niger* extracts against various clinical pathogens. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 19(1), <https://doi.org/10.22207/JPAM.19.1.06>

Anthony, M. A. (2025). Does ectomycorrhizal fungal biodiversity affect tree growth? *Fungal Ecology*, 74, 101413. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2025.101413>

B

Baz, A. M., Elwy, E., Ahmed, W. A., & El-Sayed, H. (2024). Metabolic profiling, antimicrobial, anticancer, and in vitro and in silico immunomodulatory investigation of *Aspergillus niger* OR730979 isolated from the Western Desert, Egypt. *International Microbiology*, 27(6), 1677–1691. <https://doi.org/10.1007/s10123-024-00503-z>

Brazhnikova, Y., Belimov, A., Ignatova, L., Mukasheva, T., Karpenyuk, T., & Goncharova, A. (2025). The Antagonistic Activity of Beneficial Fungi and Mechanisms Underlying Their Protective Effects on Plants Against Phytopathogens. *Sustainability*, 17(2), 450. <https://doi.org/10.3390/su17020450>

C

Coulibaly, A. E., Pakora, G. A., Ako, A. B. A., Dadé, G. E. L. N. O., N'Guessan, C. A., Kouabenan, A., ... & Djaman, J. A. (2022). Diversity of Sclerotium rolfsii antagonist fungi isolated from soils of the rhizosphere of tomato crops and identification of some antifungal compounds. *Heliyon*, 8(2). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08943>.

Chemmam, D. A., Bourzama, G., Sadrati, N., Zerroug, A., Alliouch-Kerboua, C., Bensouici, C., & Houhamdi, M. (2024). First Report of Bioactive Secondary Metabolites from *Penicillium hordei* PA2 Isolated from Sea Sand in Eastern Algeria. *Biology Bulletin*, 51(Suppl 1), S75-S89. <https://doi.org/10.1134/S1062359024600326>.

D

De Souza Rabello, V. B., Corrêa-Moreira, D., Santos, C., Abreu Pinto, T. C., Procopio-Azevedo, A. C., Boechat, J., ... & Marques Evangelista Oliveira, M. (2022). Preservation methods in isolates of *Sporothrix* characterized by polyphasic approach. *Journal of Fungi*, 9(1), 34. <https://doi.org/10.3390/jof9010034>. <https://doi.org/10.3390/jof9010034>

E

El Amrani, B. (2024). Insights into the Biotic Factors Shaping Ectomycorrhizal Associations. *Biology*, 13(12), 1044. <https://doi.org/10.3390/biology13121044>.

El-Gazzar, N., Farouk, R., Diab, N. S., Rabie, G., & Sitohy, B. (2025). Antimicrobial and antiproliferative activity of biosynthesized manganese nanocomposite with amide derivative originated by endophytic *Aspergillus terreus*. *Microbial Cell Factories*, 24, 37. <https://doi.org/10.1186/s12934-025-02651-x>.

F

Falleh, H., Hafsi, C., Mohsni, I., & Ksouri, R. (2021). Évaluation de différents procédés d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale : *Verbena officinalis* [Evaluation of different procedures for the extraction of phenolic compounds from a medicinal plant: *Verbena officinalis*]. *Biologie aujourd'hui*, 215(3-4), 133–142. <https://doi.org/10.1051/jbio/2021009>

Farooq, S., Qayum, N., Amir, N., Bukhari, N. T., Nisa, I., Khan, B., Qayum, S., Uddin, M. N., Khan, A., & Ahmad, M. (2023). Antibacterial activity of *Rhizopus* specie isolated from rhizosphere of *Mentha Piperita*. *International Journal of Health Sciences*, 7(S1), 2553–2562. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v7nS1.14546>

G

Ganeshkumar, P., Krishnamoorthy, A. S., Sangeetha, C., Nakkeeran, S., & Sivakumar, U. (2021). Antimicrobial metabolites from ectomycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker against soil borne plant pathogens. *Madras Agricultural Journal* <https://doi.org/10.29321/MAJ.10.000499>

H

Haji Hasani Sohi, P., Asgari, B., & Zare, R. (2017). *Fusarium* species associated with sugarcane rhizosphere in Khuzestan province, Iran. Communication présentée au *3rd Iranian Mycological Congress*, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

Hashem, A. H., Attia, M. S., Kandil, E. K., El-Sayed, M. A., & El-Sayed, W. S. (2023). Bioactive compounds and biomedical applications of endophytic fungi: a recent review. *Microbial Cell Factories*, 22, Article 107. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02118->

Hussein, J.M., Myovela, H., & Tibuhwa, D.D. (2024). Diversity of endophytic fungi from medicinal plant *Oxalis latifolia* and their antimicrobial potential against selected human pathogens. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(4), Article 103958. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103958>.

I

Ibrahim S.R.M., Asfour H.Z. (2018). Bioactive -butyrolactones from endophytic fungus *Aspergillus versicolor*. *International Journal of Pharmacology* 14: 4373443. *International Mycological Association* 9-9-2009 <https://dx.doi.org/10.3923/ijp.2018.437.443>

Ibnouf, E. O., Aldawsari, M. F., & Waggiallah, H. A. (2022). Isolation and extraction of some compounds that act as antimicrobials from actinomycetes. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(8), 103352. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103352>

J

Jayatilake, P. L., & Munasinghe, H. (2020). Antimicrobial Activity of Cultivable Endophytic and Rhizosphere Fungi Associated with “Mile-a-Minute,” *Mikania cordata* (Asteraceae). *BioMed Research International*, 2020(1), 5292571. <https://doi.org/10.1155/2020/5292571>

Jamshed, S., Ullah, A., Khan, F., Khan, S., Bangash, S., Khan, N., Khan, F., Ullah, N., & Naseem, M. (2023). Molecular characterization of *Penicillium chrysogenum* isolated from soil and their antibacterial activity against pathogenic species. *Tobacco Regulatory Science* 9(1):3124-3133.

Jing, M., Wang, J., Zhang, G., Ou, X., Wu, N., & Yao, K. (2025). Exploring the synergistic effects of soil nutrients, rhizosphere fungi, and endophytic fungi on the shaping of root metabolites in *Angelica sinensis* (Oliv.) *Diels.Fungal Biology*, 129, 101533. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2024.101533>

K

Kachmar, M. R., Mrabti, H. N., Bellahmar, M., Ouahbi, A., Haloui, Z., El Badaoui, K., Bouyahya, A., & Chakir, S. (2021). Traditional Knowledge of Medicinal Plants Used in the Northeastern Part of Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 20 pages. <https://doi.org/10.1155/2021/6002949>

Khattak, S. U., Lutfullah, G., Iqbal, Z., Ahmad, J., Ur Rehman, I., Shi, Y., & Ikram, S. (2021). *Aspergillus flavus* originated pure compound as a potential antibacterial. *BioMed Central Microbiology*, 21, Article 145. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02371-3>

Kornilowicz-Kowalska, T., Andruszczak, S., Bohacz, J., Kraska, P., Mozejko, M., & Kwiecińska-Poppe, E. (2022). The effect of tillage and no-tillage system on culturable fungal communities in the rhizosphere and soil of two spelt cultivars. *Applied Soil Ecology*, 174, 104413. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104413>

Kouman, W. Épiphanie, Yéhé, D., Niaba, K. P. V., Gbassi, K. G., & Beugré, G. A. M. (2024). Isolation of *Aspergillus* sp from some Decomposing Fruits and Vegetables from Banana Rhizosphere Soil for Citric Acid Production. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 33(5), 110–115. <https://doi.org/10.9734/ijbcrr/2024/v33i5881>

L

Lee, J. W., Kim, S. H., You, Y. H., Lim, Y. W., & Park, M. S. (2021). Four Unrecorded *Aspergillus* Species from the Rhizosphere Soil in South Korea. *Mycobiology*, 49(4), 346–354. <https://doi.org/10.1080/12298093.2021.1944461>.

M

Marlinda, S., Teruna, H. Y., Pratiwi, N. W., Ardhi, A., & Saryono. (2019). Optimization of bioactive metabolite production from *Fusarium oxysporum* LBKURCC41. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 532(1), 012027. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/532/1/012027>

Mustofa, A., Hastuti, U. S., & Susanto, H. (2024). Endophytic fungi isolated from *Heliotropium indicum* and their antagonism activity toward *Fusarium solani* and *F. oxysporum*. *Biodiversitas journal of Biological Diversity*, 25(12), 5063–5073.

Malik, M. A., Ahmad, N., Bhat, M. Y., & Wani, A. H. (2025). *Aspergillus aflatoxiformans* (Aspergillaceae): a new record to Indian mycobiota from Kashmir Himalaya, India. *Discover Plants*, 2(1), 34. <https://doi.org/10.1007/s44372-025-00115-5>

Mba, A. N. (2025). Pathogenicity of filamentous fungi isolated from poultry farms on gastrointestinal system of day-old chicks in Anambra State, Nigeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 26(2), 172–181.

N

Nazir, A., Puthuveetil, A. R., Hussain, F. H. N., Hamed, K. E., & Munawar, N. (2024). Endophytic fungi: nature's solution for antimicrobial resistance and sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1461504. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1461504>.

Noor, I. A., Abdullah, Ullah, I., Rehman, K. U., Ahmed, I., & Rahman, H. U. (2025). Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Fungi from the Rhizosphere and Bulk Soil of *Abelmoschus esculentus* L. *Sarhad Journal of Agriculture*, 41(1), 12-21.

P

Petersen, L.-E., Marner, M., Labes, A., & Tasdemir, D. (2019). Rapid Metabolome and Bioactivity Profiling of Fungi Associated with the Leaf and Rhizosphere of the Baltic Seagrass *Zostera marina*. *Marine Drugs*, 17(7), 419. <https://doi.org/10.3390/md17070419>.

Park, M. S., Lee, J. W., Kim, S. H., Park, J. H., You, Y. H., & Lim, Y. W. (2020). *Penicillium* from Rhizosphere Soil in Terrestrial and Coastal Environments in South Korea. *Mycobiology*, 48(6), 431–442. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1823611>.

Pang, W., Zhang, P., Zhang, Y., Zhang, X., Huang, Y., Zhang, T., & Liu, B. (2023). The Ectomycorrhizal Fungi and Soil Bacterial Communities of the Five Typical Tree Species in the Junzifeng National Nature Reserve, Southeast China. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(22), 3853. <https://doi.org/10.3390/plants12223853>

R

Raghavanpillai Sabu, K., Sugathan, S., Idhayadhulla, A., Woldemariam, M., Aklilu, A., Biresaw, G., Tsegaye, B., & Manilal, A. (2022). Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Activity of *Excoecaria agallocha* Leaf Extract. *Journal of experimental pharmacology*, 14, 17–26. <https://doi.org/10.2147/JEP.S339383>

S

Sadrati, N. (2021). Isolement, identification et culture des champignons endophytes isolés à partir des plantes médicinales algériennes pour la production des métabolites secondaires biologiquement actifs [Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1]. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Sadrati, N., Zerroug, A., Demirel, R., & Harzallah, D. (2023). Anti-multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and anti-dermatophyte activities of secondary metabolites of the endophytic fungus *Penicillium brevicompactum* ANT13 associated with the Algerian endemic plant *Abies numidica*. *Archives of Microbiology*, 205, 110. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03452-9>.

Shehabeldine, A. M., Abdelaziz, A. M., Abdel-Maksoud, M. A., El-Tayeb, M. A., Kiani, B. H., & Hussein, A. S. (2024). Antimicrobial characteristics of endophytic *Aspergillus terreus* and acute oral toxicity analysis. *Electronic Journal of Biotechnology*, 72, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2024.07.003>.

Syatrawati, Kuswinanti, T., Nasruddin, A., Rosmana, A., & Minarseh, L. (2024). Exploring Fungal Candidates from Aromatic Rhizosphere as Biological Controls Against Three *Pyricularia oryzae* Haplotypes. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 27(4), 196–209. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2024.196.209>

V

Vignolle, A., Zehl, M., Kirkegaard, R. H., Vignolle, G. A., & Zotchev, S. B. (2025). Secondary Metabolite Biosynthesis Potential of *Streptomyces* Spp. from the Rhizosphere of *Leontopodium nivale* Subsp. *alpinum*. *American Chemical Society Omega*. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c10476>

W

Wang, S., Liu, Y., & Haipeng, Z. (2019). Isolation and Identification of Rhizosphere Fungi from *Aegiceras corniculatum*. *Advances in Marine Sciences*, 6(3). <https://doi.org/10.12677/AMS.2019.63011> .

Williams, A., Sinanaj, B., & Hoysted, G. A. (2024). Plant-microbe interactions through a lens: tales from the mycorrhizosphere. *Annals of Botany*, 133(3), 399–412. <https://doi.org/10.1093/aob/mcad191>

Z

Zerroug A., Sadrati N., Demirel R., Bakli S., & Harzallah D. 2018. Antibacterial activity of endophytic fungus, *Penicillium griseofulvum* MPR1 isolated from medicinal plant, *Mentha pulegium* L. *African Journal of Microbiology Research* 12: 1056-66. <http://dx.doi.org/10.5897/AJMR2018.8887>

Zhgun, A. A. (2023). Fungal BGCs for Production of Secondary Metabolites: Main Types, Central Roles in Strain Improvement, and Regulation According to the Piano Principle. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 2244.

ANNEXES

Annexes

Annexe 01 : produits chimiques

- ✓ Eau physiologique
- ✓ DMSO
- ✓ Solvant d'acétate d'éthyle
- ✓ La gentamicine
- ✓ Pénicilline
- ✓ Chlorure de sodium (NaCl)
- ✓ Bleu de Méthylène

Annexe 02 : Composition des milieux

- **Potato Dextrose Agar (PDA)**
 - ✓ Pomme de terre 200g
 - ✓ Agar 20g
 - ✓ Glucose 20g
 - ✓ Eau distillée 1L

- **Potato Dextrose Broth (PDB)**
 - ✓ Pomme de terre 200g
 - ✓ Glucose 20g
 - ✓ Eau distillée 1L

- **Gélose Nutritive (GN)**
 - ✓ GN 23g
 - ✓ Eau distillée 1L

- **Plate Count Agar (PCA)**
 - ✓ PCA 20g
 - ✓ Eau distillée 1L

- **Bouillon Nutritive (BN)**
 - ✓ BN 30g
 - ✓ Eau distillée 1L

- **Gélose molle**
 - ✓ L'agar-agar 7g
 - ✓ Eau distillée 1L








- **Eau physiologie**
 - ✓ Chlorure de sodium (Na Cl) 7g
 - ✓ Eau distillée 1L





❖ Remarque

La stérilisation de l'ensemble des milieux de culture a été réalisée par autoclavage à 120 °C pendant 20 minutes.



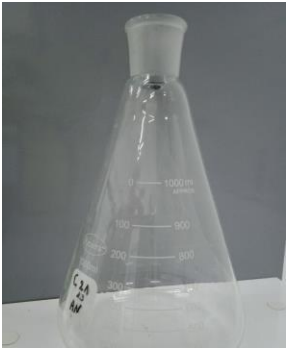



Annexe 03 : Appareillage et outillage

- Appareil

Appareil	Photos	Appareil	Photos
Balance de précision		Plaque chauffante	
Bain-marie		Vortex	
Étuvé		Hotte chimique	
Autoclave		Agitateur magnétique	

<p>Microscope</p>	 A blue and white optical microscope with two eyepieces and a stage.	<p>Balance analytique</p>	 A digital analytical balance with a stainless steel weighing pan and a blue LCD display showing '0.00'.
<p>Spectrophotomètre</p>	 A white spectrophotometer with a digital display showing '0.041' and '91.0'.	<p>Distillateur d'eau</p>	 A white water distiller with a perforated front panel and a power cord.

- **Matériel**

Matériel	Photo	Matériel	Photo
Micropipette		Ampoule à décantation	
Erlenmeyer		Bec Bunsen	
Anse de Platine		Écouvillon stérile	

المخلص

أجريت هذه الدراسة بهدف عزل وتحديد الفطريات الجذرية المرتبطة بنباتي القمح الصلب (*Triticum durum*) والخزامى (*Lavandula stoechas* L.) تم الحصول على 44 عزلة فطرية من عينات التربة الجذرية المجمعة من منطقتي برج بو عريريج وبجاية. تم إجراء فحص أولي للنشاط المضاد للميكروبات ضد *Candida albicans* و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. أظهرت 8 عزلات نشاطاً ضد *S. aureus*، و4 ضد *E. coli*، بينما لم تُظهر أي عزلة نشاطاً ضد *C. albicans*. بناءً على نتائج هذا الفحص، تم اختيار 7 عزلات CH5، CH8، CH18، CH19، CH29، CH38، CH44 لإجراء اختبارات متقدمة. حددت هذه العزلات مورفولوجياً وأدرجت ضمن أجناس *Aspergillus*، *Penicillium* و *Fusarium*. أظهرت المستخلصات الناتجة عن التخمر في وسط سائل والاستخلاص باستخدام الأسيتات الإيثيلي تبايناً في النشاط المضاد. أظهرت عزلة *Fusarium* sp. (CH38) أعلى تأثير، حيث بلغت مناطق التثبيط 26 ملم ضد *Bacillus cereus*، و24 ملم ضد *Streptococcus pyogenes*، و22.5 ملم ضد *Staphylococcus aureus*. كما أظهرت عزلة *Penicillium* sp. (CH19) نشاطاً قوياً بلغ 19.75 ملم ضد *S. pyogenes* و19.5 ملم ضد *B. cereus* و *K. pneumoniae*. تميزت عزلة *Aspergillus* sp. (CH29) بنطاق أوسع من الفعالية شمل بعض البكتيريا سالبة الجرام. أكدت اختبارات التركيز المثبط الأدنى (CMI) هذه النتائج، خصوصاً لعزلة CH38 التي سجلت قيماً تتراوح بين 0.128 و0.256 ملغ/ملم ضد *S. aureus* و *B. cereus*. في المقابل، أظهرت بعض العزلات مثل *Aspergillus* sp. (CH44) نشاطاً محدوداً جداً. تُسلط هذه النتائج الضوء على الغنى البيولوجي لترب الجذور بالفطريات، القادرة على إنتاج مركبات ذات نشاط حيوي، مما يعزز إمكانية استغلالها كمصدر واعد في مجال التكنولوجيا الحيوية المضادة للميكروبات، لا سيما في مواجهة البكتيريا موجبة الجرام المقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الجذرية، القمح الصلب (*Triticum durum*)، الخزامى (*Lavandula stoechas* L.)، النشاط المضاد للبكتيريا، المستقلبات الثانوية، *Penicillium*، *Fusarium*، *Aspergillus*.

Résumé

Cette étude a été menée afin d'isoler et d'identifier des champignons rhizosphériques associés à *Triticum durum* et *Lavandula stoechas* L dans le but d'évaluer leur potentiel antimicrobien. Au total, 44 isolats fongiques ont été obtenus à partir des échantillons de sols rhizosphériques collectés dans les régions de Bordj Bou Arréridj et Béjaïa. Un criblage préliminaire de l'activité antimicrobienne a été réalisé contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Huit isolats ont montré une activité contre *S. aureus*, quatre contre *E. coli*, et aucun contre *C. albicans*. Sur la base de leur activité, sept isolats (CH5, CH8, CH18, CH19, CH29, CH38, CH44) ont été retenus pour des tests approfondis. L'identification morphologique a permis d'assigner ces isolats aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Les extraits obtenus par fermentation en milieu liquide et extraction à l'acétate d'éthyle ont révélé des profils d'activité différenciés. *Fusarium* sp. (CH38) a présenté les zones d'inhibition les plus importantes : **26 mm contre *Bacillus cereus***, **24 mm contre *Streptococcus pyogenes***, et **22,5 mm contre *S. aureus***. *Penicillium* sp. (CH19) a également montré une forte activité, atteignant **19,75 mm contre *S. pyogenes*** et **19,5 mm contre *B. cereus* et *K. pneumoniae***. L'isolat *Aspergillus* sp. (CH29) s'est distingué par un spectre plus large, incluant certaines bactéries Gram négatives. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) a confirmé une forte activité, notamment pour CH38 contre *Bacillus cereus* et *S. aureus* (CMI = 0,128–0,256 mg/mL). À l'inverse, certains isolats (*Aspergillus* sp. CH44) ont montré une activité très limitée. L'ensemble des résultats met en évidence la richesse des sols rhizosphériques en champignons producteurs de métabolites bioactifs, avec un potentiel exploitable en biotechnologie antimicrobienne, en particulier contre les bactéries Gram positives multirésistantes.

Mots clés : Champignons rhizosphériques, *Triticum durum*, *Lavandula stoechas* L, activité antibactérienne, métabolites secondaires, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*.

Abstract

This study was conducted to isolate and identify rhizospheric fungi associated with *Triticum durum* and *Lavandula stoechas* L in order to evaluate their antimicrobial potential. A total of 44 fungal isolates were obtained from rhizospheric soil samples collected in the regions of Bordj Bou Arréridj and Béjaïa. A preliminary screening of antimicrobial activity was carried out against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Candida albicans*. Eight isolates showed activity against *S. aureus*, four against *E. coli*, and none against *C. albicans*. Based on their performance, seven isolates (CH5, CH8, CH18, CH19, CH29, CH38, CH44) were selected for further investigation. Morphological identification classified them into the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Fusarium*. Extracts obtained through liquid fermentation and ethyl acetate extraction showed varying activity profiles. *Fusarium* sp. (CH38) exhibited the largest inhibition zones: **26 mm against *Bacillus cereus***, **24 mm against *Streptococcus pyogenes***, and **22.5 mm against *S. aureus***. *Penicillium* sp. (CH19) also demonstrated strong activity, with 19.75 mm against *S. pyogenes* and 19.5 mm against *B. cereus* and *K. pneumoniae*. *Aspergillus* sp. (CH29) was notable for a broader spectrum that included some Gram-negative bacteria. Minimum inhibitory concentration (MIC) testing confirmed strong activity, especially for CH38, with MIC values of 0.128–0.256 mg/mL against *Bacillus cereus* and *S. aureus*. In contrast, certain isolates such as *Aspergillus* sp. (CH44) showed very limited activity. Overall, the findings highlight the richness of rhizospheric soils in fungi producing bioactive metabolites with exploitable potential in antimicrobial biotechnology, particularly against multidrug-resistant Gram-positive bacteria.

Keywords: Rhizospheric fungi, *Triticum durum*, *Lavandula stoechas* L, antibacterial activity, secondary metabolites, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*.